

SÉRIE A, N° 692

N° D'ORDRE

1450

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

HENRI VIOLLE

MÉDECIN DE LA MARINE

1^{re} THÈSE. — DE LA VÉSICULE BILIAIRE ENVISAGÉE COMME LIEU
D'INOCULATION. (CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ
ET A LA PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE.)

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 Mars 1912 devant la Commission d'Examen.

MM. DASTRE	Président.
MATRUCHOT	} Examinateurs.
FERNBACH	
MESNIL	

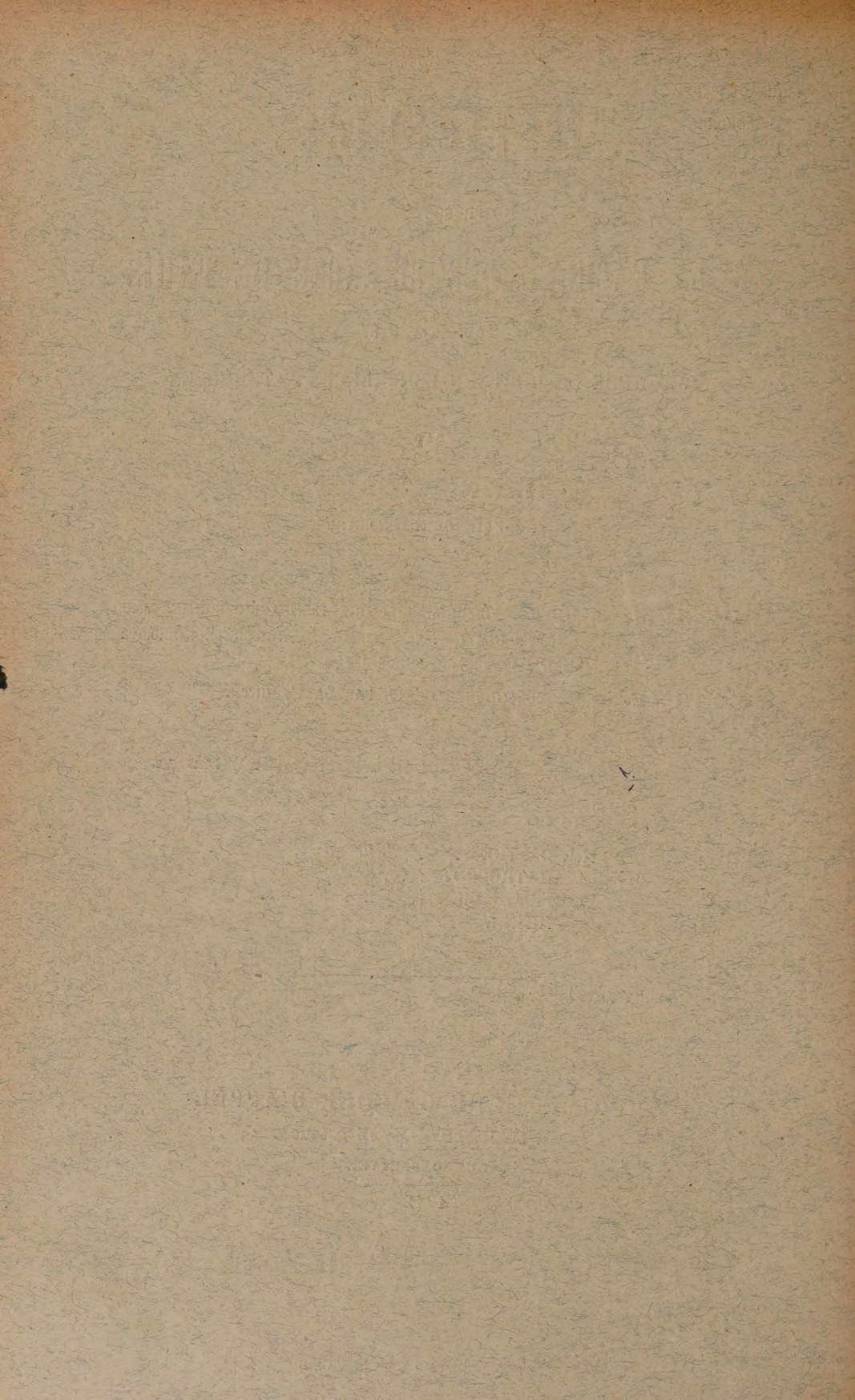
PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

L. MARETHEUX, Directeur

1, RUE CASSETTE, 1

1912



SÉRIE A, N° 692

N° D'ORDRE

1450

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

HENRI VIOLLE

MÉDECIN DE LA MARINE

1^{re} THÈSE. — DE LA VÉSICULE BILIAIRE ENVISAGÉE COMME LIEU
D'INOCULATION. (CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'IMMUNITÉ
ET A LA PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE.)

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 8 Mars 1912 devant la Commission d'Examen.

MM. DASTRE.	<i>Président.</i>
MATRUCHOT . . . }	<i>Examineurs.</i>
FERNBACH . . . }	
MESNIL }	



PARIS

IMPRIMERIE DE LA COUR D'APPEL

L. MARETHEUX, Directeur

1, RUE CASSETTE, 1

1912

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen P. APPELL, *Profess.* Mécanique rationnelle.

Doyen honoraire G. DARBOUX, — Géométrie supérieure.

Professeurs honoraires. { CH. WOLF.
J. RIBAN.

<i>Professeurs.</i>	{	LIPPMANN	Physique.
		BOUTY	Physique.
		BOUSSINESQ	Physique mathém. et calcul des probabilités.
		PICARD	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
		H. POINCARÉ	Astronomie mathém. et mécanique céleste.
		Y. DELAGE	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
		G. BONNIER	Botanique.
		DASTRE	Physiologie.
		KOENIGS	Mécanique physique et expérimentale.
		VÉLAIN	Géographie physique.
		GOUSAT	Calcul différentiel et calcul intégral.
		CHATIN	Histologie.
		HALLER	Chimie organique.
		JOANNIS	Chimie (Enseignement P. C. N.).
		JANET	Physique. —
		WALLERANT	Minéralogie.
		ANDOYER	Astronomie physique.
		PAINLEVÉ	Mathématiques générales.
		HAUG	Géologie.
		HOUSSAY	Zoologie.
		H. LE CHATELIER	Chimie.
		GABRIEL BERTRAND	Chimie biologique.
		M ^{me} P. CURIE	Physique générale.
		CAULLERY	Zoologie (Evolution des êtres organisés),
		C. CHABRIÉ	Chimie appliquée.
		G. URBAIN	Chimie.
BOREL	Théorie des fonctions.		
MARCHIS	Aviation.		
JEAN PERRIN	Chimie physique.		
G. PRUVOT	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.		
N	Application de l'analyse à la géométrie.		
N	Calcul différentiel et calcul intégral.		
<i>Professeurs adjoints.</i>	{	PUISEUX	Mécanique et astronomie.
		LEDUC	Physique.
		MATRUCHOT	Botanique.
		MICHEL	Minéralogie.
		BÉROUARD	Zoologie.
		LÉON BERTRAND	Géologie.
RÉMY PERRIER	Zoologie (Enseignement P. C. N.).		
MOLLIARD	Physiologie végétale.		
COTTON	Physique.		

Secrétaire D. TOMBECK.

A MON PÈRE JULES VIOLLE

MEMBRE DE L'INSTITUT

A MA MÈRE

A MES FRÈRES

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR DASTRE

MEMBRE DE L'INSTITUT

Ce travail a été fait au laboratoire de bactériologie de la Marine, à Cherbourg. Je dois remercier mes chefs d'avoir bien voulu me confier pendant l'année 1911 la direction de ce laboratoire.

M. le D^r ROUX, directeur de l'Institut Pasteur, a daigné me témoigner un intérêt constant dont je sens vivement le prix. Qu'il daigne accepter ici l'hommage ému de ma profonde et respectueuse gratitude.

J'ai d'ailleurs trouvé auprès des Maîtres éminents de l'Institut Pasteur, de MM. les Professeurs BOREL et MESNIL, une aide qui me fut très précieuse et dont je tiens à les remercier vivement.

M. le Professeur PINOY a eu la bonté de s'intéresser à mon travail; il l'a dirigé et facilité par de continuels conseils que sa compétence rendait tout particulièrement précieux. Je le prie d'accepter l'expression de ma très grande et affectueuse reconnaissance.

INTRODUCTION

En retirant un sac de collodion, chargé de sporotrichum, dont nous tentions d'exalter le pouvoir pathogène par passage dans le péritoine de lapin, nous vîmes ce sac, après les vingt jours qu'il était resté dans la cavité, si adhérent à la face inférieure du tissu hépatique, qu'à première vue on eût crû être en présence d'une vésicule biliaire hypertrophiée. L'idée nous vint alors d'employer cette même vésicule, préalablement liée à son col, au même titre qu'un sac de collodion. Mais les différences de propriétés des parois étaient telles que nous n'eûmes que des échecs. Quelques gouttes d'une culture de diphtérie inoculée dans cette cavité causa la mort rapide de l'animal; il en fut de même avec le charbon, puis avec des cultures staphylococciques, etc. Etudiant les phénomènes qui se passaient à l'intérieur de cette vésicule, lors de l'inoculation d'un antigène, à virulence atténuée, nous vîmes qu'ils paraissaient être sous la dépendance presque exclusive des leucocytes qui, attirés par cet antigène, arrivaient à le détruire et à produire en retour des anticorps spécifiques.

Le problème consistait donc à obtenir un antigène à virulence assez faible, pour ne point provoquer de phénomènes réactionnels trop violents, et cependant à virulence assez intense, pour provoquer la formation d'anticorps en quantité notable. Les résultats que nous obtînmes d'abord avec le vibrion cholérique, le bacille typhique, puis avec le bacille tuberculeux aviaire et le sporotrichum, enfin avec des antigènes organiques, albumines et hématies, montrèrent que, par ce procédé, on pouvait arriver à obtenir d'une façon très rapide

et sans mettre la vie de l'animal en danger, des anticorps puissants et doués dans quelques cas (vibrion cholérique et bacille tuberculeux) de propriétés immunisantes, actives et passives, très nettes.

Tous les phénomènes d'immunisation, dans la méthode que nous employâmes, semblent en étroit rapport avec la leucocytose, apparaissent et disparaissent avec elle; aussi pourrait-on émettre l'hypothèse que la persistance de l'immunité ou la récurrence de certaines maladies est essentiellement soumise à cette influence leucocytaire (1).

Les affections diphtériques, tétaniques, cholériques ou pesteuses ne s'accompagnent point d'immunisation, mais, la guérison obtenue, leurs agents causals ne demeurent pas à l'état pathogène dans l'organisme, et, de ce fait, aucune réaction leucocytaire ne persiste.

Par contre, dans le cas d'infection éberthienne (nous laissons de côté les autres affections : maladies éruptives, etc., dont l'agent est inconnu), où l'immunité persiste fort longtemps, le bacille semble, d'après les recherches récentes, subsister très souvent pendant plusieurs années dans divers recoins de l'organisme (vésicule biliaire, appendice, cæcum, etc.); et, de ce fait, la formation, ou plus exactement l'entretien de la présence des anticorps dans l'organisme, s'explique par les réactions leucocytaires continues vis-à-vis de cet agent pathogène persistant. Nous verrons plus loin les preuves que l'on peut fournir à l'appui de cette hypothèse.

Enfin, dans les cas d'affection staphylococcique ou streptococcique, l'immunisation, loin d'être obtenue, laisse une sensibilité particulière de l'organisme à subir la même affection. Ne peut-on pas alors admettre que les anticorps, en quantité suffisante, sont effacés par la prédominance des antigènes toxiques, qui mettent l'organisme en une phase négative continue?

(1) D'ailleurs, il paraît en être de même pour les phénomènes d'immunisation contre les champignons. Bruno-Bloch a montré que les *Trichophyton* qui provoquent de fortes suppurations déterminent, par cela même chez les animaux inoculés, l'immunité contre une nouvelle inoculation.

Le plan de cette étude comprend deux parties :

1° La première, surtout théorique, dans laquelle seront mentionnées les généralités relatives au sujet de ce travail (rôle de la bile, des globules blancs, des substances chimiotactiques et du foie dans la production des anticorps vaccinnants et immunisants);

2° La seconde, surtout expérimentale, dans laquelle on décrira les résultats obtenus par l'inoculation de divers antigènes bactériens (vibrion cholérique, bacille d'Eberth, bacille tuberculeux aviaire, sporotrichum), ou organiques (albumine et hématies).

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LES DIVERS MODES D'INOCULATION

En 1888, Roux et Yersin (1) obtinrent des toxines actives du bacille diphtérique et reproduisirent expérimentalement, par l'inoculation de ces seules toxines chez l'animal, des phénomènes morbides spécifiques. Peu après, Knud Faber prépara par les mêmes procédés une toxine tétanique. Le problème thérapeutique consista donc à trouver des substances antitoxiques *in vivo*. C'est alors que Behring et Kitasato (2) montrèrent que l'on pouvait obtenir un sérum antitoxique spécifique chez les animaux préparés par l'inoculation préalable de toxine. Richet et Héricourt avaient auparavant mis en évidence les propriétés vaccinales pour le lapin de sang défibriné de chien préalablement soumis à des inoculations de *staphylococcus pyosepticus*.

Plus récemment, grâce aux travaux de Bordet et Gengou en France, d'Ehrlich, Wassermann et Kraus, en Allemagne, on vit que l'organisme ne réagissait point seulement contre les toxines et les bactéries, mais aussi contre les globules san-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888, 1889, 1890.

(2) *Deutsch. med. Woch.*, dec. 1890, n^{os} 49 et 50.

guins, diverses cellules et un grand nombre de matières albuminoïdes.

Les substances que l'on injecte ont été désignées sous le nom d' « antigènes » et l'on appela « anticorps » les substances spécifiques formées dans le sérum des animaux préparés.

Nous envisagerons donc les procédés qui sont généralement employés comme voie d'inoculation à l'effet d'obtenir des anticorps chez l'animal que l'on prépare. Nous ne ferons que rappeler pour mémoire les principaux :

1° La voie sous-cutanée. Elle présente l'avantage d'être inoffensive généralement, pratique et rapide comme moyen d'inoculation. Elle permet de surveiller les réactions locales qui peuvent se manifester, phénomènes parfois indispensables pour évaluer la valeur de l'immunisation. C'est le procédé employé d'une part pour la vaccine, la tuberculine, etc., d'autre part pour la clavelée chez les animaux, etc.;

2° La voie intramusculaire, surtout utilisée chez les oiseaux (inoculation intrapectorale) dans les vaccinations du choléra des poules et autres pasteurelloses;

3° La voie intraveineuse. Cette méthode, délicate chez les petits animaux, cobayes, souris, est très aisée chez les autres, lapins, moutons, etc. ; elle présente le grand avantage de porter l'antigène instantanément et totalement au sein de l'organisme, sans lui faire subir des réactions secondaires qui peuvent le modifier. C'est le mode presque exclusivement employé pour l'obtention, chez les grands animaux (cheval), de sérum immunisant (anti-pestueux, anti-méningococcique, anti-cholérique, etc.);

4° La voie intrapéritonéale qui, outre ses indications propres, se substitue à la voie intraveineuse dans certains cas et principalement lorsque cette dernière offre de trop grandes difficultés. Par conséquent, la souris, le rat, le cobaye seront avec avantage vaccinés par ce procédé. D'une façon générale, les réactions péritonéales survenant à la suite des injections dans la cavité sont plus intenses, plus difficilement maniables que les réactions générales dues aux injections intraveineuses;

5° La voie digestive, par la muqueuse buccale, est rarement employée (friction de la face interne des lèvres et de la langue

avec le virus dans le cas de fièvre aphteuse, par l'intestin (ingestion), elle est utilisée dans les cas de choléra, fièvre typhoïde, tuberculose, mais sans grands succès. Préconisée récemment sous forme d'injections et de lavements intra-rectaux dans le but d'obtenir la vaccination typhique, elle paraît devoir donner de bons résultats.

En résumé, chacune de ces voies a ses indications et contre-indications, suivant la nature de l'antigène, et suivant l'espèce animale considérée.

Toutefois, ces deux facteurs, l'antigène et l'animal récepteur, quelle que soit la nature de l'un, la réceptivité et le mode d'inoculation de l'autre, présentent un certain nombre de termes que l'on doit pouvoir aisément modifier, si l'on veut conduire à bien une immunisation.

Le meilleur mode d'inoculation à employer serait assurément celui qui, tout en provoquant chez l'animal opéré le moins de réaction possible, l'immuniserait rapidement et intensivement. Il est évident que des bactéries ou des toxines ne peuvent être injectées dans l'organisme par doses massives intermittentes, ce qui produit chez l'animal des ressauts de réaction violente, mais plutôt d'une façon lente et continue, afin que le sujet, recevant à chaque instant le virus ou la toxine, soit totalement et doucement imprégné par lui. Il peut alors réagir sans grand fracas et faire inconsciemment, pour ainsi dire, son immunisation. La méthode des inoculations successives, par doses croissantes de virus, dont le degré de toxicité augmente parallèlement, répond à ce but. C'est elle, en effet, qui dans la pratique des vaccinations fournit les meilleurs résultats.

Mais là encore, l'immunisation ne peut se faire que par petits à-coups, par oscillations successives, dont on ne saurait prévoir la grandeur; la période d'immunisation est en outre fort longue, se chiffrant par plusieurs mois (4, 5, 6 et plus); et les phénomènes intimes qui président à l'élaboration des anticorps sont difficiles à surprendre.

Un antigène virulent, placé dans l'organisme en une position telle qu'il pourrait difficilement se généraliser, mais facilement être atteint par les leucocytes bactériophages, provoquerait la formation abondante d'anticorps spécifiques. Mais est-il possible

de résoudre ce problème? Autrement dit, peut-on trouver dans l'organisme un point tel que les bactéries virulentes situées en ce lieu et ne le pouvant quitter, sauf dans des cas très rares, restent soumises à l'action des leucocytes, dont le but est de détruire ces corps bactériens et de produire des anticorps?

Le sac de collodion, chargé de bactéries et déposé dans la cavité péritonéale d'un animal, afin d'obtenir par des passages successifs un renforcement de virulence (Roux, Metchnikoff et Salimbeni), ne paraît pas directement applicable.

En effet, si l'on introduit dans la cavité péritonéale d'un lapin un sac de collodion renfermant 1 centimètre cube de culture typhique de 24 heures en bouillon, et que l'on procède tous les 3 jours à des essais de mensuration du taux agglutinatif du sérum de l'animal, on ne constate qu'un renforcement très faible des propriétés agglutinantes de ce sérum.

Deux lapins, l'un ayant depuis 1 mois un sac de collodion, ensemencé avec une culture typhique, et l'autre servant de témoin, sont inoculés intrapéritonéalement avec une culture typhique à dose mortelle (environ 10 centimètres cubes). Les 2 animaux meurent, à peu près dans le même laps de temps; il n'y a pas eu d'immunisation forte chez le premier sujet dont la mort survient quelques heures après celle du témoin. Il paraît s'ensuivre que des corps bactériens inclus dans des cavités closes et imperméables ne permettent point l'élaboration d'anticorps spécifiques. Toutefois la question est plus complexe, ce qui explique quelques résultats différents.

C'est ainsi qu'avec des microbes extrêmement virulents pour une espèce animale, la méthode des sacs de collodion chargés de ces cultures a procuré quelques propriétés vaccinales aux animaux en expérience. Il en est ainsi avec le choléra des poules, où Bisanti trouvait qu'après 20 jours les sujets résistaient à l'ingestion d'une culture virulente. Dans ce cas, les anticorps formés sont antitoxiques, puisque la mince paroi de collodion s'oppose au passage des corps organisés (microbes ou phagocytes) mais laissent diffuser dans l'organisme les toxines microbiennes, ou plus exactement certaines toxines (Rodet et Guecheff). Il en résulte que si l'on a affaire à une toxine dialysable très active, comme celle pouvant être produite par le bacille tétanique, les leucocytes, ne pouvant atteindre les

spores protégées par la membrane de collodion ou mieux par une membrane de papier, plus perméable à la toxine (Vaillard, Vincent et Rouget), l'animal succombera au tétanos. En effet, les spores, se développant, donneront des bacilles qui sécréteront la toxine mortelle.

Le procédé du sac de collodion serait donc utilisable s'il pouvait être également perméable aux leucocytes et imperméable aux bactéries. Ces conditions, en apparence contradictoires, nous les trouvons dans la vésicule biliaire de certains animaux et en particulier du lapin.

CHAPITRE II

VÉSICULE BILIAIRE

TECHNIQUE DE L'INOCULATION INTRAVÉSICULAIRE

I. — VÉSICULE BILIAIRE.

La vésicule biliaire chez le lapin se présente sous la forme d'un sac ovoïde ayant en moyenne 2 centimètres de longueur suivant son grand axe et 1 centimètre de largeur. Sa capacité est d'environ 1 centimètre cube, mais très irrégulière, puisque, avec des animaux de poids égaux, ce nombre peut varier du simple au triple. Elle est réunie au canal cholédoque par le canal cystique, dans lequel fréquemment viennent s'aboucher latéralement des canaux hépatiques accessoires. Dans quelques cas très rares, nous avons trouvé un canal hépatico-cystique, mais cette anomalie, vu sa rareté, n'offre aucun intérêt.

Le canal cystique vient se jeter dans le duodénum à 1 centimètre environ du pylore ; il possède des valvules de Heister et, à son point d'abouchement dans l'intestin, un repli valvulaire. Cette route tortueuse apporte une gêne énorme à la libre circulation de la bile vésiculaire vers l'intestin. Il faut pour évacuer le liquide employer une pression constante et graduelle sur la vésicule, et ainsi encore on réussit mal chez le lapin (Dastre). La vésicule est à l'état normal remplie par la bile ; elle ne se vide très incomplètement qu'à des intervalles indéterminés ; les contractions de la couche musculaire n'ont de prise que si le réservoir est complètement rempli, et elles ne réussissent à évacuer que le trop-plein (1). La stagnation de la bile explique l'imprégnation manifeste de la muqueuse vésiculaire, tandis

(1) DASTRE, *Dictionnaire de Physiologie*, Article « Bile ».

qu'il n'y a pas de coloration des canaux biliaires; elle explique également une concentration de la bile plus ou moins considérable, se traduisant par des modifications de couleur, de densité et de richesse en pigments et en sels biliaires plus ou moins importantes (Dastre). Cette concentration est due au pouvoir absorbant des parois dont les cellules actives sont représentées par les villosités lamelleuses de la muqueuse.

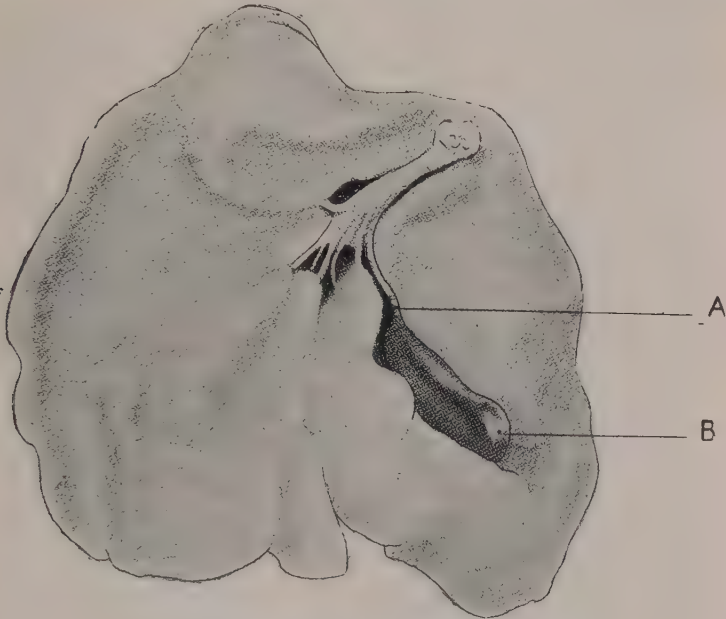


FIG. 1. — Foie normal de lapin.

A, point où la vésicule biliaire est liée. — B, point où la vésicule biliaire est ponctionnée.

Outre la bile qui vient se déverser dans la vésicule, on constate la présence en faible quantité d'un liquide clair et visqueux, qui peut être mis en évidence par une fistule cystique et qui est constitué par de la mucine en infime proportion et de la pseudo-mucine en plus grande abondance, sécrétées par les glandes de la muqueuse vésiculaire même et dont le rôle paraît être de protéger cette paroi contre l'action irritante et même nécrosante de la bile. Tout ce contenu biliaire peut être facilement enlevé par aspiration à l'aide d'une seringue de Pravaz; toutefois, à cause

des sels et des pigments biliaires concrétés et presque toujours en abondance, il est nécessaire, si l'on veut obtenir une vésicule libre de toutes matières, de faire des lavages à plusieurs reprises différentes, avec de l'eau tiède et légèrement alcalinisée.

On obtient ainsi une cavité dont les parois sont constituées par deux tuniques, l'une externe se subdivisant en deux zones : périphérique, fibreuse ; centrale, musculaire. Cette couche comprend des fibres longitudinales externes, circulaires internes ; l'autre interne, muqueuse, comprenant un chorion constitué par un tissu conjonctif réticulé. Des amas leucocytaires, véritables follicules clos, sont répandus dans ce chorion qui se soulève en plis saillants, nombreux et très irrigués. Au-dessus, outre le derme et l'épithélium, on constate la présence d'une membrane basale. L'épithélium est simple, prismatique, à noyau ovoïde et revêtu d'un plateau strié.

Mais quels sont les rapports de cette vésicule avec le foie, avec la circulation locale et générale ? Est-elle, abstraction faite de la région canaliculaire qui s'anastomose avec le canal hépatique, absolument indépendante ?

Elle présente des connexions avec les tissus hépatiques, et elle est reliée par des vaisseaux au reste de l'organisme.

Ses faces latérales externe et interne, sa face inférieure et son pôle, revêtus par le seul feuillet viscéral du péritoine, sont libres de toute adhérence et permettent, en n'importe quel point, d'atteindre la vésicule. Mais sa face supérieure est intimement reliée au tissu hépatique ; ni la déplétion, ni la réplétion de la vésicule ne permettent de la libérer de ses adhérences. La tunique fibro-muscleuse adhère là au parenchyme par l'intermédiaire d'un tissu cellulaire assez épais. Les connexions vont plus loin : elles sont non seulement tissulaires, mais encore vasculaires ; et, dans cette région vésiculaire adhérente, on trouve les artères perforantes qui vont directement du foie à sa face supérieure, et des veines cystiques profondes qui pénètrent dans la fossette cystique et se ramifient à la manière des artères, formant un système de veines portes accessoires. Il en résulte que les communications entre le foie et la vésicule biliaire restent bien établies, alors même qu'une ligature est posée au col et comprend le canal cystique, l'artère cystique et les veines cystiques superficielles. Ces communications

hépatovésiculaires sont mises en évidence par les inoculations de substances toxiques et par celles de corps microbiens.

I. *Inoculation de substances toxiques.* — Etant donnés deux lapins de même poids, on inocule à l'un, dans la veine margi-

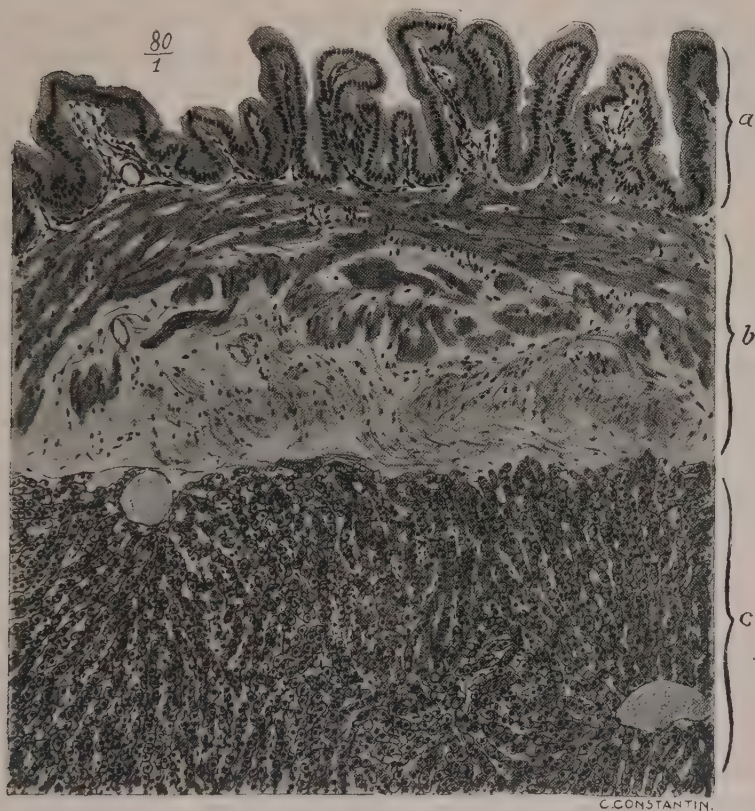


FIG. 2. — *Vésicule biliaire normale* (face supérieure).

a, muqueuse : endothélium, chorion. — b, couche musculo-fibreuse.
c, tissu hépatique.

nale de l'oreille, 10 milligrammes de sulfate de strychnine, dissous dans 1 cent. cube d'eau stérilisée. La mort est immédiate par convulsions et tétanisation généralisées, se produisant avant même que l'aiguille soit retirée.

Si l'on fait une injection semblable au second lapin, mais en

inoculant la solution dans la vésicule biliaire liée, on obtient des résultats qui, quoique se rapprochant beaucoup des précédents, en diffèrent toutefois par la longueur d'évolution. Là encore, l'animal meurt, mais les phénomènes morbides n'apparaissent pas avec l'instantanéité précédente : pendant les 10 premières minutes, aucun symptôme ne se manifeste ; puis, ce laps de temps écoulé, quelques convulsions apparaissent, donnant le signal du drame qui se déroula en quelques minutes.

Ainsi, en injection intraveineuse : mort instantanée, foudroyante ; en injection intravésiculaire : mort rapide en 1/4 d'heure environ. Dans le premier cas, le phénomène est immédiat, le poison arrivant directement, par l'intermédiaire du sang, en contact avec les centres nerveux. Dans le second cas, le phénomène se décompose en deux périodes : l'une pendant laquelle le toxique pénètre dans les capillaires sanguins vésiculaires, pour de là se répandre dans la circulation générale : première période, latente, sans symptômes réactionnels, dont la durée est de 10 minutes environ ; deuxième période, dans laquelle le poison a envahi l'organisme, mais lentement, graduellement, de telle sorte que les symptômes mettent un temps appréciable à se manifester.

II. *Inoculation de corps microbiens.* — On prend 2 lapins : l'un reçoit en injection intraveineuse 1 centimètre cube d'une culture charbonneuse en bouillon à 37 degrés, âgée de 8 jours ; l'animal meurt en 24 à 36 heures généralement, avec les lésions caractéristiques du charbon. L'autre animal reçoit la même solution en même quantité dans la vésicule biliaire liée ; il meurt également, mais avec un léger retard, après 48 à 52 heures.

Il résulte de ces faits que la paroi vésiculaire laisse passer ces différents corps en solution aqueuse, en bouillon, en eau peptonée, etc...

On voit, en outre, que les antigènes ne subissent pas de transformation appréciable dans leur passage à travers le foie,

quoique ce dernier ait un rôle protecteur et éliminateur contre les toxines exogènes (1) et endogènes (2).

Les propriétés que nous venons de signaler ne sont pas particulières à la vésicule du lapin. Chez le cobaye, le mouton et le bœuf, la vésicule présente également des adhérences.

Chez le cobaye, la vésicule biliaire, relativement très grosse, présente une paroi mince et translucide, à travers laquelle apparaît la bile, jaune clair et très limpide. La face supérieure vésiculaire est entièrement et intimement adhérente au foie, sans présenter de plan de clivage, de telle sorte que toute séparation des deux organes entraîne un déchirement du tissu hépatique. Les vaisseaux allant de l'un à l'autre de ces organes sont situés dans la zone d'adhérence.

Chez le mouton, la vésicule, de dimensions très variables, parfois même totalement atrophiée, ayant d'ordinaire le volume d'une figue, présente aussi avec le tissu hépatique des adhérences, comprenant dans leur intérieur de nombreux vaisseaux établissant la circulation entre les deux organes. Ces adhérences sont situées à la face supérieure, laissant libre le pôle vésiculaire et comprenant seulement la portion moyenne et canaliculaire de la vésicule.

Chez le bœuf, la vésicule est de forte dimension, ovoïde, ayant de 15 à 20 centimètres de long suivant son grand axe, à parois épaisses, vascularisées; le contenu est d'environ 150 à 200 grammes de bile; la face supérieure présente également de fortes adhérences avec le foie et de nombreuses vascularisations.

Chez le cheval, on sait que la vésicule biliaire fait défaut.

II. — TECHNIQUE DE L'INOCULATION INTRA-VÉSICULAIRE.

La méthode que nous avons employée pour faire les inoculations dans la vésicule biliaire est la suivante :

Dans les premiers essais que nous fîmes, nous atteignons la vésicule en faisant l'incision suivant le rebord des fausses côtes droites. Le dégagement du foie était plus aisé et la mise à nu

(1) HEGER (1873), ROGER (1887).

(2) DASTRE. *Dictionnaire de Physiologie*. Article « Foie ».

de la poche vésiculaire rendue ainsi très facile ; mais l'opération était un peu longue par suite de la section des plans musculaires et de la ligature souvent obligatoire de l'artère mammaire droite.

C'est pourquoi, dans toutes les opérations suivantes, nous opérâmes suivant la ligne blanche en procédant aux différents temps que voici :

L'animal étant attaché par les membres sur un plateau de zinc, la région à opérer est épilée, puis aseptisée à l'alcool et à la teinture d'iode. On fait l'anesthésie à l'éther, si l'animal est trop sensible, car les mouvements brusques à certains temps délicats (injection dans la vésicule) peuvent compromettre le résultat de l'opération. Les téguments sectionnés suivant la ligne médiane, on tombe sur la ligne blanche, que l'on incise sur une longueur de 4 à 6 centimètres. On déchire

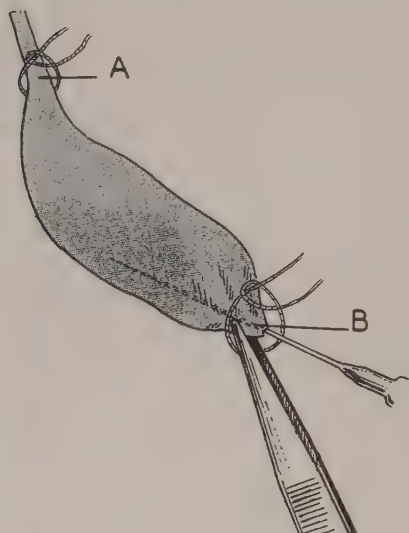


FIG. 3. — Schéma indiquant le mode d'inoculation intra-vésiculaire.

A, point où la vésicule est d'abord liée. — B, point où la vésicule est ensuite ponctionnée ; la bile est retirée par aspiration et remplacée par un antigène, puis la vésicule est liée en ce point.

le léger voile constitué par le péritoine, et le foie apparaît. On attire l'organe en bas, et on l'éverse de bas en haut et d'arrière en avant : le foie luxé, la face inférieure est ainsi mise à jour. En interposant, d'une part, des tampons de gaze entre la coupole diaphragmatique et le foie, en bourrant, d'autre part, l'espace intermédiaire entre la région inférieure du foie et les intestins, on « cale » la masse hépatique ; et les manœuvres de la vésicule, très en évidence, sont aisées. On passe sous le col ainsi dégagé, un fil de soie monté sur une aiguille de Reverdin, et on lie le canal en ce point. A l'aide d'une seringue de Pravaz ponction-

nant la vésicule à son pôle libre, on aspire le contenu vésiculaire qui, dans beaucoup de cas, est riche en mucine, en sels concrétés, et forme ainsi un liquide épais, qui difficilement pénètre dans l'aiguille. En le diluant et en lavant la vésicule à plusieurs reprises avec de l'eau physiologique jusqu'à ce qu'elle sorte complètement incolore, on a un réservoir d'une capacité de $1/2$ à 1 centimètre cube $1/2$, prêt à recevoir les inoculations de liquide pathogène. L'aiguille étant toujours en place (car il serait, dans le cas où on l'aurait retirée, très difficile de retrouver le premier orifice) et la seringue étant chargée du liquide antigénique, on pousse l'injection doucement jusqu'à ce que la vésicule ait atteint son volume primitif. A ce moment, toujours sans retirer l'aiguille, on passe un fil de soie comprenant dans sa boucle cette aiguille et la paroi vésiculaire, légèrement soulevée et tendue par une pince. Tout en dégageant l'aiguille, on serre le fil de façon que celle-ci, complètement retirée, aucune goutte de liquide ne vienne à sortir. Enfin, pour plus de sûreté, on met une pointe de feu sur l'orifice. On enlève les tampons, on suture la ligne blanche à l'aide de trois ou quatre points de catgut. Les téguments sont réunis par quelques agrafes de Michel. En dernier lieu, on badigeonne à la teinture d'iode la plaie suturée, que l'on recouvre d'un peu de collodion.

CHAPITRE III

PROCÉDÉS D'OBTENTION D'ANTICORPS

PAR INOCULATION DANS LA VÉSICULE BILIAIRE

A la suite d'inoculations intravésiculaires de divers antigènes, l'organisme réagit par la formation d'anticorps spécifiques correspondants.

I. — Mais il est de toute nécessité de transformer la vésicule en un sac clos, ce qui s'obtient par la ligature du col. Autrement l'antigène inoculé dans la vésicule biliaire préalablement vidée de son contenu, mais libre, s'éliminera rapidement par voie intestinale sans provoquer la formation d'anticorps.

Exemple : Lapin n° 26 reçoit le 20 juillet dans la vésicule libre, sans contenu biliaire et lavée préalablement à l'eau légèrement alcalinisée, 1/2 tube de culture cholérique à 37 degrés sur gélose de 24 heures diluée dans 1 centimètre cube 1/2 d'eau physiologique. La température, 24 heures après, s'élève très légèrement (1° à 1° 1/2) durant 24 heures pour revenir ensuite à la normale. Le taux agglutinatif du sérum qui, avant l'opération, était de 1 pour 5, se maintient à ce chiffre 8, 10 et 15 jours après l'opération.

A ce moment, l'animal est sacrifié; la vésicule biliaire est sans adhérence, sans épaissement des parois, mais présente une très légère congestion de la muqueuse; son contenu est vert clair, constitué par de la bile, qui a rempli à nouveau la poche vésiculaire. Microscopiquement, ce liquide contient une proportion très élevée de cellules endothéliales; on ne voit ni leucocytes, ni bactéries. Toutefois, l'ensemencement en eau peptonée est positif et montre la présence des vibrions.

En un mot, l'inoculation de vibrions cholériques dans la vésicule biliaire libre a provoqué une légère réaction de la muqueuse ; les vibrions cholériques ont disparu en grande partie après 10 à 15 jours et n'ont pas engendré la formation d'anticorps spécifiques.

Les ensemencements en eau peptonée de sang prélevé par ponction intracardiaque pendant les 15 jours suivant l'inoculation, sont restés négatifs.

II. — Au contraire, l'antigène inoculé dans la vésicule transformée en cavité close donnera naissance à des anticorps.

Prenons le cas des vibrions cholériques inoculés dans une vésicule liée : après quelque temps, 10 à 15 jours, le sérum jouit de propriétés immunisantes.

III. — Si l'on vient à inoculer dans la vésicule liée une culture microbienne, mais cette fois préalablement tuée par la chaleur, l'animal ne paraîtra point réagir, et cette inoculation passera inaperçue. Toutefois le sérum contient des anticorps, comme dans le cas précédent, quoique en plus faible proportion.

A l'autopsie, faite 2 à 3 semaines après l'inoculation, on rencontre toujours une vésicule hypertrophiée, à contenu caractéristique. Au contraire, la vésicule est-elle liée après aspiration de son contenu et laissée vide, elle ne tarde pas à s'atrophier, et, au bout de quelques semaines, elle présente l'aspect d'une membrane desséchée et ridée.

Par quel mécanisme peut-on expliquer la production des divers anticorps ?

Anatomiquement, nous constatons toujours à la suite de nos opérations sur la vésicule liée la même série de lésions, quel que soit l'antigène inoculé (virulent ou non : bactéries, toxines, hématies ou substances albuminoïdes) ; la vésicule biliaire a changé de volume, elle s'est hypertrophiée jusqu'à atteindre dans certains cas le volume d'un œuf de poule (voir les observations relatives à l'inoculation du bacille typhique).

La paroi est épaissie, indurée. Histologiquement, on constate en parcourant la coupe de dedans en dehors (voir figures aux chapitres « Choléra » et « Tuberculose ») :

1° *Que la tunique interne* ou muqueuse présente :

α) Un épithélium intact, à cellules peu desquamées, ni atro-

phiée ni hypertrophiées. Mais entre ces cellules, on rencontre un très grand nombre de globules blancs (polynucléaires) se glissant soit vers la tunique externe, où ils transportent avec eux les anticorps élaborés, soit dans l'intérieur de la vésicule à l'effet de détruire l'antigène inoculé;

β) Un chorion très fortement épaissi et dont l'architecture est modifiée par la triple présence de globules blancs (polynucléaires et mononucléaires) en abondance, de fibres conjonctives, de vaisseaux de néo-formation consistant en capillaires nombreux;

2° *Que la tunique externe* présente également une abondance anormale de leucocytes et de capillaires, mais laissant subsister intacte l'architecture primitive.

A l'intérieur de la poche, on trouve une substance semi-liquide essentiellement constituée par des globules blancs (polynucléaires).

Si nous prenons le vibrion cholérique, par exemple, nous voyons qu'à son début, dans les premières heures qui suivent l'opération, il est en extrême abondance; injecté en petite quantité, il a pu dans ce milieu favorable se développer; sous son action, la muqueuse vésiculaire est rouge, congestionnée, desquamée, laissant tomber dans le liquide une quantité énorme de cellules endothéliales. Puis, les leucocytes commencent déjà à apparaître; très mobiles, attirés par un chimiotactisme positif (toute toxine, tout corps microbien en faible proportion jouit de cette propriété), ils sont venus des différents points de l'organisme. Ils ont passé par les capillaires qui forment un réseau à la face supérieure de la vésicule, intimement reliée, nous le savons, à la face inférieure du foie. Grâce aux anastomoses vasculaires, et malgré la ligature du col qui intéresse le canal cystique et la plus grande partie des voies sanguines irriguant la vésicule, les leucocytes ont pénétré à travers les diverses tuniques vésiculaires et sont tombés dans la cavité même, se trouvant ainsi en présence des corps microbiens. Là, sous l'influence des toxines sécrétées, une partie des leucocytes a été détruite; mais l'afflux continuant à se produire, les globules blancs, à leur tour, toujours renouvelés, ont pu vaincre la résistance microbienne, et, par leur action diastatique propre, immobiliser, puis englober et finalement

détruire les vibrions. Aux dépens de ces corps microbiens disparus, se sont élaborées dans le cytoplasme leucocytaire des substances actives qui, lors d'une nouvelle injection cholérique, viendront sensibiliser les nouveaux vibrions dont la destruction sera parachevée par les alexines banales du sérum. C'est là, schématiquement résumée, dans le cas actuel, la théorie de Metchnikoff sur l'immunité, théorie phagocytaire grâce à laquelle les phénomènes qui se passent dans la vésicule s'expliquent aisément, et sans laquelle, par contre, il est impossible, avec les seules théories humorales, d'interpréter les faits. Le leucocyte joue dans ces phénomènes d'élaboration des anticorps le rôle prépondérant; il constitue la base fondamentale sur laquelle viennent s'édifier les différentes parties de ces monuments de défense organique qui constituent l'immunité, et il forme le premier chaînon de cette longue chaîne des anticorps. Sans leucocytes, point de vaccination possible, point d'anticorps pouvant se former. Les expériences citées plus haut le prouvent avec évidence. Vient-on à favoriser l'afflux leucocytaire dans la vésicule, des anticorps se forment en plus ou moins grande abondance; vient-on au contraire à entraver cette leucocytose, à interdire aux globules blancs l'entrée de cette poche vésiculaire, on ne perçoit pas la plus faible réaction d'immunité.

A la suite de la résorption des corps étrangers, les leucocytes se mettent à élaborer une grande quantité de sensibilisatrices ou phylocytases, et l'on admet que la rate, la moelle osseuse, les ganglions, sont les foyers producteurs de ces substances. Élaborées en certains points seulement, elles resteraient localisées dans ces mêmes globules blancs qui les ont engendrées; ou bien, éliminées par ces leucocytes encore vivants, elles se disperseraient dans le plasma, se généraliseraient dans tout l'organisme.

Et de fait, ces deux hypothèses se justifient par les constatations suivantes :

1° Dans le sérum, on trouve après quelques jours des anticorps parfois en quantité notable, capables, à faible dose, de neutraliser des toxines très actives : les agglutinines, les précipitines, les sensibilisatrices, les antitoxines, etc., sont, en effet, en circulation dans le plasma.

2° Dans les foyers d'élaboration, ces mêmes substances se trouvent naturellement présentes. Or, dans le cas d'inoculation intravésiculaire, le point d'origine de formation des anticorps est, avant les ganglions, avant la moelle osseuse et la rate, assurément la vésicule dans laquelle on a inoculé l'antigène (1). Les faits expérimentaux le prouvent (voir 2^e partie : vibron cholérique et bacille tuberculeux).

Le contenu vésiculaire est donc doué de propriétés vaccinales au même titre que le sérum. Autrement dit, il semble vraisemblable que les globules blancs, générateurs des anticorps, conservent ces derniers dans leur cytoplasme en proportion si appréciable que la quantité vaccinnante leucocytaire est supérieure à la dose également vaccinnante sérique : c'est-à-dire que la concentration en anticorps est plus grande, à volumes égaux, dans le suc vésiculaire que dans le sérum où ils se trouvent plus ou moins fortement dilués.

Il est donc probable qu'il y aurait intérêt dans ce cas à utiliser, comme moyen d'immunisation, non pas le sérum, mais les globules blancs qui en contiennent toutes les substances actives, et ne paraissent pas présenter par contre les mêmes propriétés toxiques.

La présence des leucocytes dans la vésicule persiste très longtemps. Quel que soit l'antigène inoculé, à l'autopsie on trouve toujours dans la poche vésiculaire des globules blancs ; ils ne sont jamais complètement détruits et résorbés ; après 5, 6 et 7 mois (date ultime à laquelle nous avons sacrifié les animaux) la vésicule a conservé son contenu leucocytaire, la proportion des éléments vivants aux éléments morts paraissant passer par trois phases successives :

1° Dans la première, qui suit l'opération, et qui dure de 24 à 48 heures, les leucocytes sont en grande partie détruits, aussitôt leur arrivée dans la vésicule.

2° Dans une seconde période, allant du 2^e au 15^e jour envi-

(1) Vu la difficulté qu'il y a à apprécier d'une manière exacte la teneur en leucocytes dans le sang périphérique d'un lapin, cette teneur variant dans des limites extrêmes d'un instant à l'autre, 8.800 à 13.000 selon Tallqvist et Villebrand, et, d'après Besançon et Labbé (*Traité d'hématologie*, p. 308), « les variations physiologiques étant encore beaucoup plus étendues » et faussant tout résultat, nous nous sommes abstenu de faire les numérations leucocytaires.

ron, c'est-à-dire durant toute la phase d'élaboration des anti-corps, la proportion des éléments vivants l'emporte sur celle des éléments tués.

3° Dans une troisième et dernière période, débutant vers le 15^e jour et dont la terminaison ne se fait que très tardivement, de nouveau la proportion de cellules dégénérées vésiculaires est supérieure à celle des cellules encore jeunes.

Par contre, la vitalité des corps microbiens dans la vésicule se montre de courte durée. Après 15 jours, dans tous les cas de choléra observés, l'eau peptonée,ensemencée avec le liquide vésiculaire restait stérile et les frottis de ce liquide n'indiquaient jamais la présence de corps vibrioniens.

Pourtant, d'autres bactéries semblent résister davantage à l'afflux considérable des leucocytes : le bacille tuberculeux aviaire, 6 mois après son inoculation dans la vésicule, était encore en abondance quoique en quantité moindre qu'au début ; ses formes étaient nettes et le protoplasme se colorait très aisément. Mais ces bacilles devaient être, sinon tués, du moins excessivement atténués, puisque le contenu de la vésicule n'est jamais parvenu, en injection intraveineuse, à tuer le lapin, et en injection sous-cutanée, à déterminer des lésions chez le cobaye, alors que les témoins inoculés, avec la même dose de bacilles frais, mouraient dans un espace de temps très court (lapin) ou présentaient des lésions tuberculeuses (cobaye).

Ce fait, que, très longtemps, plusieurs mois après l'inoculation, la vésicule montre encore la présence de leucocytes (la plupart dégénérés), doit faire émettre l'hypothèse que le sujet est encore en état d'immunité ou que la vaccination persiste. Et en effet, 4 mois après l'injection intra-vésiculaire de bacilles tuberculeux, l'inoculation à dose mortelle en injection veineuse de nouveaux bacilles ne provoquait aucune réaction chez l'animal ; l'immunité avait donc persisté durant tout ce laps de temps. Il est probable qu'elle se maintient encore beaucoup plus longtemps.

S'il paraît vraisemblable que la formation des anti-corps est due essentiellement au contenu vésiculaire, la suppression de la vésicule fera cesser l'immunité. Elle doit replacer l'ani-

mal dans son état antérieur de réceptivité, le jour où les substances vaccinales répandues dans l'organisme seront éliminées.

Et c'est en effet ce que l'on constate

Exemple : Lapin 82 est inoculé le 1^{er} novembre intravésiculairement (vésicule liée) avec une culture cholérique en eau peptonée.

10 jours après l'opération, le taux agglutinatif de 1/10 (chiffre initial) s'élève à 1/500 et s'y maintient.

20 jours après l'inoculation, l'animal est opéré à nouveau et la vésicule biliaire, gonflée, légèrement hypertrophiée, aux

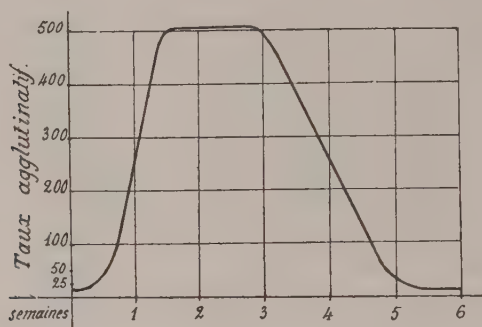


FIG. 4.

parois épaissies et déjà indurées, et au contenu leucocytaire assez abondant, est réséquée.

15 jours après cette ablation vésiculaire, le taux agglutinatif était redescendu à 1/10.

Dans la plupart des méthodes d'immunisation, il est une période comprise entre l'inoculation vaccinale et l'apparition des anticorps dans le sang, véritable phase négative pendant laquelle le sujet est en état de réceptivité vis-à-vis de l'affection contre laquelle on l'immunise. Besredka, par sa méthode des bacilles sensibilisés, est arrivé à supprimer cette période d'hypo-immunisation. Par les procédés d'inoculation intravésiculaire, cette phase négative serait également absente. Chez deux lapins, l'un déjà inoculé intravésiculairement avec une culture cholérique, l'autre neuf, une injection intraveineuse à dose minima mortelle détermine la mort dans le même laps de

temps (en l'espèce, 10 à 12 heures). Et de même, une dose maxima non mortelle ne détermine la mort chez aucun des deux sujets. Il n'y a donc pas non plus d'hypersensibilité réceptrice chez l'animal inoculé intravésiculairement quelques jours auparavant.

CHAPITRE IV

IMPERFECTIONS DE L'INOCULATION DANS LA VÉSICULE BILIAIRE

L'immunisation par la vésicule biliaire se trouve en défaut dans le cas des bacilles peu virulents, et ne peut être employée, sans modifications, dans le cas des bacilles trop virulents.

1° Dans le premier cas, la quantité inoculée, nécessairement toujours faible, n'amène pas la formation d'anticorps. C'est ce qui nous arriva avec le coli-bacille, par exemple (voir 2^e partie). Le sérum d'animaux opérés 8, 15 et 25 jours auparavant, ne présentait aucune des substances agglutinantes, précipitantes, indicatrices ou contemporaines de la vaccination.

Cela d'ailleurs ne fait que rentrer dans la loi générale, qui préside à l'immunisation, et d'après laquelle la proportion d'anticorps varie parallèlement à la toxicité ou à la virulence de l'antigène injecté ;

2° Dans le second cas, les bactéries inoculées se généralisent à l'intérieur de l'organisme, causant rapidement la mort de l'animal. L'injection intravésiculaire s'est comportée comme une injection intraveineuse, offrant les mêmes inconvénients et les mêmes dangers. C'est là ce qui survient lors de toute inoculation intravésiculaire charbonneuse ; la mort arrive régulièrement 48 à 52 heures après l'opération. Il en est de même avec les bacilles diphtériques, dysentériques, les staphylocoques, streptocoques et pneumocoques. Certains bacilles, le vibron cholérique, par exemple, restent le plus souvent localisés dans la vésicule, mais dans quelques cas que l'on ne peut prévoir, ils passent dans la circulation générale et tuent l'animal.

On peut tenter le maintien de bactéries virulentes dans

l'intérieur de la vésicule, soit en atténuant leur virulence, soit en renforçant l'afflux leucocytaire. On obtiendra d'excellents effets avec les deux procédés employés de concert. L'atténuation seule de la virulence donne déjà de bons résultats. Elle peut être facilement obtenue par le chauffage au bain-marie des cultures entre 55 et 60 degrés durant 1/2 à 1 heure. Les bactéries ainsi modifiées deviennent plus aisément la proie des leucocytes ; elles ne se généralisent donc dans l'organisme que très difficilement. Par contre, elles provoquent l'élaboration d'anticorps, que l'on met aisément en évidence dans le sérum. Mais la production de ces récepteurs est moins abondante que celle qu'entraînent les bacilles vivants et virulents.

En effet, si l'on vient à inoculer dans la vésicule biliaire d'un lapin 1 centimètre cube d'eau peptonée ensemencée avec le vibron cholérique, on obtient un sérum agglutinant, variant entre 1 pour 100 et 1 pour 1000. Si l'on inocule la même quantité de vibrions cholériques, mais tués au préalable par la chaleur, on obtient un sérum dont les propriétés agglutinantes sont beaucoup moins élevées, ne dépassant pas 1 pour 50.

Exemple : lapin n° 104, inoculé le 20 octobre dans la vésicule biliaire, vidée de son contenu et ligaturée au col, reçoit 1/3 de tube de culture cholérique (18 heures sur gélose à 37 degrés) diluée dans 1 centimètre cube d'eau physiologique et chauffée 1/2 heure à 60 degrés au bain-marie. 15 jours après l'inoculation, le sérum agglutine à 1 pour 50.

Cependant, on peut dire que les deux expériences ne sont pas identiques au point de vue de la quantité vibronnienne inoculée ; dans le second cas, cette quantité reste immuable ; dans le premier, les vibrions, vivant et se développant dans un excellent milieu de culture, peuvent se reproduire, malgré l'action antagoniste des leucocytes, et la proportion est en définitive beaucoup plus élevée.

Ceci nous conduit à dire un mot de l'hyperimmunisation que l'on peut obtenir avec des bacilles dont on a diminué la virulence par le chauffage, dans la crainte que, trop accentuée, elle ne causât la mort du sujet en expérience.

Si la quantité d'anticorps formée à la suite d'une inoculation intravésiculaire de bacilles atténués n'est pas au-dessous d'une limite inférieure, on obtiendra des récepteurs en grande abon-

dance. Mais pour ce faire, l'inoculation intravésiculaire, déjà légèrement vaccinante par elle-même, devra être suivie d'injections intraveineuses successives et progressives, jusqu'à ce que l'on ait atteint le maximum de développement des propriétés immunisantes. Or, ces injections secondaires pourront être, même dès le début, virulentes et mortelles pour le témoin, tandis que l'animal vacciné par inoculation intravésiculaire antérieure pourra toujours résister. En un mot, l'inoculation intravésiculaire, agissant comme injection vaccinante préparante, permettra, dans le cas où les anticorps formés sont en trop faible quantité, d'immuniser à fond et sans danger l'animal par des injections secondes.

Toutefois, l'hyperimmunisation obtenue par ce procédé semble avoir une durée notablement plus courte que la simple immunisation intravésiculaire. C'est là d'ailleurs un fait général : les inoculations intraveineuses paraissent donner une immunisation qui « tient » moins, et tend à redescendre assez rapidement ; mais dans le cas d'inoculation intravésiculaire préalable, se trouvant soutenue par cette première immunisation antérieure, la vaccination ne tombe jamais très bas et persiste longtemps.

On peut représenter par une double courbe l'association continue de ces deux inoculations : préparante vaccinante et secondaire renforçatrice ou hyperimmunisante. La première courbe s'élèverait rapidement et se maintiendrait longtemps à un même degré pour ne s'abaisser que progressivement ; la seconde atteindrait son optimum plus rapidement encore mais s'abaisserait également un peu plus vite.

En résumé, les essais d'immunisation chez un animal, par l'inoculation de bactéries dans la vésicule, relèvent d'un des trois cas suivants :

1° La bactérie n'est point ou peu virulente ; il est impossible de provoquer la formation d'anticorps ;

2° La bactérie est de virulence moyenne ; elle ne cause point la mort de l'animal lors d'inoculation intravésiculaire. Dans ce cas, l'emploi de ce procédé suffira pour fournir des anticorps en proportion convenable ;

3° La bactérie est de très grande virulence ; elle cause rapidement en inoculation intravésiculaire la mort du sujet opéré.

Il devient alors nécessaire d'atténuer par la chaleur les cul-

tures avant de les employer. On est ramené au cas n° 2. Néanmoins, la bactérie a pu subir une atténuation telle que la formation d'anticorps est diminuée d'une façon très sensible. On a recours alors aux injections intraveineuses secondes de cultures virulentes; l'animal déjà en état d'immunisation, réagit en produisant une abondante quantité d'anticorps; mais il ne présente aucun phénomène morbide.

CHAPITRE V

POURQUOI LA BILE DOIT ÊTRE ÉVACUÉE DE LA VÉSICULE

ACTION ANTILEUCOCYTAIRE

ACTION DIFFÉRENTE SUR DIVERSES BACTÉRIES

Dans son ensemble, la bile a, vis-à-vis des leucocytes, un pouvoir chimiotactique négatif intense. Les bactéries inoculées dans la vésicule, le suc biliaire non retiré, peuvent parfois rester un temps très long avant de disparaître. Ceci se constate surtout si les bactéries sont en faible proportion, car un double effet chimiotactique sera en jeu; d'une part, l'action retardatrice puissante de la bile, d'autre part, l'action favorisante positive très nette des bactéries ou toxines en petite quantité.

A dose plus élevée, en effet, les corps bactériens et toxiques retardent au contraire la phagocytose et peuvent même l'entraver complètement. Suivant donc la quantité de bile laissée dans la vésicule, et la quantité des bactéries ou toxines ajoutées dans cette même vésicule, on obtiendra un mélange dont l'action résultante sera positive, indifférente ou négative, vis-à-vis de la leucocytose.

Enfin la bile, milieu extrêmement complexe, a également une action propre sur les bactéries, mais les modifications qu'elle peut leur imprimer sont encore profondément différentes suivant les cas, parfois même opposées.

La bile vis-à-vis du pneumocoque (Neufeld, Nicolle et Adilbey), du gonocoque, du méningocoque (Jungano), des diplocoques se rattachant à cette même famille, aura une action bactéricide et lytique puissante. Dans 2 centimètres cubes

d'une culture en bouillon de pneumocoque, âgée de 24 heures, une faible quantité (0 cc,1 à 0 cc,2) de bile de bœuf provoquera la destruction, la désintégration complète des éléments bactériens. La culture s'éclaircit en 15 minutes et l'examen direct, l'ensemencement, l'inoculation, révèlent l'absence de tout germe visible, vivant et virulent (phénomène de Neufeld). Les mêmes phénomènes se produisent avec la bile de lapin dans des cultures de méningocoques et de gonocoques.

Au contraire, la bile pure de bœuf, ensemencée avec une culture de bacilles typhiques, colibacilles, paratyphiques, etc., favorisera le développement de ces bactéries (milieu d'enrichissement de Conradi pour le bacille d'Eberth); il en est de même avec la bile de lapin ensemencée avec les bacilles typhique, coli et le vibrion cholérique. Bien mieux, ce sera un milieu de prédilection pour ces éléments bactériens, qui s'y développeront avec une rapidité beaucoup plus grande que dans toute autre substance nutritive.

D'autre part, la bile paraît avoir une action particulière sur la virulence de certains bacilles, de la tuberculose en particulier, la modifiant, l'atténuant dans des proportions sensibles, à condition toutefois que la bile soit de même origine que le bacille; autrement dit, il est nécessaire d'employer de la bile humaine pour le bacille tuberculeux humain, bovide pour le bacille bovin, etc. (Calmette). On connaît les essais de vaccination très intéressants qui ont été obtenus par cette méthode Calmette et Guérin (1).

Mais là encore, dans tous ces différents cas où l'action de la bile favorise nettement le développement des corps microbiens, sa présence dans la vésicule biliaire paraît être nuisible, car son action leucocytaire répulsive l'emporte de beaucoup sur l'action attirante leucocytaire provoquée par les bacilles.

Il en résulte que l'inoculation de vibrion cholérique, par exemple, dans la vésicule biliaire non vidée de son contenu, mais liée, ce qui constitue en réalité un ensemencement du vibrion cholérique avec de la bile, déterminera très rapidement la généralisation du vibrion dans l'organisme et pourra pro-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur et C. R. de l'Académie des Sciences*, années 1907 à 1912.

voquer la mort, le milieu de culture étant particulièrement favorable, et rien n'entravant le développement.

Exemple : Lapin n° 57, inoculé le 24 octobre dans la vésicule biliaire suivant le mode habituel, avec une goutte de culture en eau peptonée de vibron cholérique, âgée de 18 heures, à 37 degrés : 12 heures après l'inoculation, mort. A l'autopsie, peu de lésions; liquide péritonéal peu abondant, mais louche, contenant une proportion énorme de vibrions et de polynucléaires renfermant eux-mêmes des vibrions. La vésicule biliaire est aplatie, flasque, congestionnée, renfermant des placards de cellules muqueuses avec inclusion des vibrions. Si l'on répète la même expérience, mais en ne liant point d'abord la vésicule, on obtient des résultats différents :

Exemple : Lapin n° 55, inoculé le 20 juillet intravésiculairement avec quelques gouttes d'eau peptonée contenant du vibron cholérique. Le col vésiculaire n'est pas lié, et la bile est laissée.

Le taux agglutinatif est mesuré 5, 10, 15, 20 et 30 jours après l'opération. Primitivement de 1/10; il ne subit aucune variation et reste identique à ce qu'il était antérieurement.

Le 20 septembre, deux mois après l'inoculation, l'animal est de nouveau opéré; sa vésicule est mise à nu. Son volume n'est pas modifié et son contenu, clair, a conservé sa teinte verdâtre. On retire, par ponctions, quelques gouttes du liquide : sur frottis, on voit des cellules épithéliales en petite quantité et point de vibrions cholériques. L'ensemencement de ce liquide en eau peptonée est cependant positif, et décèle la présence de vibrions.

On pose une ligature de soie sur le col, transformant ainsi la vésicule en cavité close; et on suture la paroi abdominale.

Vingt-quatre heures après, le vibron cholérique a passé dans la circulation générale (ensemencement positif en eau peptonée de 1 centimètre cube de sang retiré par ponction intracardiaque).

Trente-six heures plus tard, l'animal est mort.

Il résulte de ces faits que le vibron, contenu dans la vésicule biliaire libre et chargée de bile, pousse abondamment dans ce milieu.

Les évacuations intermittentes de tout le contenu étant

fréquentes, les bactéries, au fur et à mesure de leur production, sont rejetées dans l'intestin, où elles ne peuvent causer, chez l'individu adulte, aucun phénomène morbide.

Au contraire, si la vésicule est liée à son col, les vibrions développés avec intensité dans cet excellent milieu, et ne pouvant se déverser dans l'intestin, se répandent dans la circulation générale.

En un mot, que la bile ait une action favorable ou nuisible sur les bactéries, cette action restera toujours minime en regard de celle beaucoup plus importante qu'elle présente vis-à-vis des leucocytes.

Et quoiqu'il soit très probable que, dans certains cas (nous avons en vue le bacille tuberculeux), la bile bien employée, pourrait, en imprégnant seulement les bacilles laissés quelque temps en contact avec elle et lavés ensuite, être un adjuvant utile, il paraît nécessaire, dans toutes les inoculations intravésiculaires, de vider totalement le contenu biliaire. Par les lavages successifs, à l'eau physiologique et mieux à l'eau légèrement alcalinisée qui a la propriété de dissoudre les éléments biliaires et la mucine, on obtiendra une poche dans laquelle on inoculera les bacilles en cultures pures et non modifiées par le milieu.

CHAPITRE VI

EFFETS FAVORABLES OU DÉFAVORABLES DE L'INTRODUCTION DANS LA VÉSICULE BILIAIRE DE SUBSTANCES CHIMIOTACTIQUES POSITIVES OU NÉGATIVES POUR LES LEUCOCYTES

Dans le but de reconnaître le rôle joué par l'afflux leucocytaire dans la vésicule, nous avons étudié l'effet de diverses substances ayant sur les globules blancs, les unes une action chimiotactique positive, les autres une action chimiotactique négative. Nous avons vu que l'adjonction à un milieu de culture de bouillon, d'eau peptonée, ou de glucose dans la proportion de 1 p. 100, en favorisant la leucocytose, aide puissamment à la production d'anticorps. Il en serait de même avec l'essence de térébenthine, mais celle-ci a une action bactéricide trop puissante pour qu'on puisse l'employer.

1° *Exemple* : Lapin, n° 73, inoculé le 5 octobre, reçoit dans la vésicule biliaire 1 centimètre cube d'eau physiologique contenant en suspension deux cultures de vibrions sur gélose de 24 heures à 37 degrés; on a ajouté à la dilution 6 gouttes de térébenthine.

L'agglutination, 10 jours après l'opération, s'élève à 1 p. 100. A l'autopsie, faite 20 jours après, on constate que la vésicule est très légèrement hypertrophiée, renfermant dans son intérieur des leucocytes; il n'y a pas de vibrions; par contre, la térébenthine est restée en très grande partie non résorbée.

2° *Exemple* : Lapin, n° 79, inoculé le 30 septembre, reçoit dans la vésicule 1/2 centimètre cube de térébenthine et 1/2 cen-

timètre cube de bouillonensemencé extemporanément avec une culture cholérique.

Le sérum présente un taux agglutinatifs'élevant dans les 15 premiers jours à 1 p. 500, pour redescendre à 1 p. 50, 30 jours après. A l'autopsie, faite à cette époque : absence de vibrions dans la vésicule.

Lorsque nous étudierons les anticorps, apparaissant à la suite d'inoculations intravésiculaires d'hématies de mouton, nous citerons les résultats obtenus, toutes choses égales d'ailleurs, dans les cas suivants : le premier, où les hématies sont inoculées seules en milieu isotonique (eau physiologique), le second, où elles sont en milieu chimiotactique négatif (acide lactique en solution à 1 p. 100), le troisième, où elles sont mélangées à des corps possédant un pouvoir chimiotactique positif (spores de charbon tuées). Les résultats sont conformes, dans ces trois cas, aux règles générales. Le pouvoir hémolytique du sérum, dans le premier cas, atteint 1 p. 10; dans le second, il reste égal à ce qu'il était auparavant; dans le troisième, il s'élève à 1 p. 100.

Mais si, dans l'exemple que nous avons pris précédemment, le fait d'ajouter une substance repoussant les leucocytes permet de comprendre pourquoi le pouvoir hémolytique reste invariablement au taux qu'il possédait antérieurement, puisque les hématies n'ont pas été détruites, il est difficile d'expliquer comment, avec une substance favorisante, le pouvoir hémolytique s'élève et devient supérieur à ce qu'il eût été sans l'adjonction de cette substance.

Peut-être faut-il admettre, ce qui semble d'accord avec les constatations faites à l'autopsie, que, dans le premier cas, les leucocytes n'ont pas détruit intégralement toutes les hématies, tandis que dans le second, cette désintégration a été complète, poussée jusqu'à la disparition totale de tout vestige hémolytique.

Inversement, les substances chimiotactiques négatives, en repoussant les leucocytes, empêcheront toute formation d'anticorps. L'addition de sels de quinine, d'acide lactique, etc., en quantité extrêmement faible, à la culture inoculée dans la vésicule, entravera l'élaboration, même minime, de substances

immunisantes; et ces résultats sont constants, quel que soit l'antigène considéré: bactérien, cellulaire ou albumineux.

Les expériences venant à l'appui de cette hypothèse seront décrites en détail dans la deuxième partie de ce travail, principalement aux chapitres « Sang », « Choléra » et « Bacille tuberculeux ».

CHAPITRE VII

LA VESICULE BILIAIRE PRISE COMME LIEU D'INOCULATION, N'AGIT QUE COMME RÉSERVOIR DE LEUCOCYTES ET DE VIRUS.

Nous avons vu que l'adjonction de substances chimiotactiques positives ou négatives modifie la formation des anticorps et que, par suite, la vésicule biliaire ne paraît agir que comme réservoir de leucocytes et de virus.

Ceci nous amène à dire un mot du rôle du foie dans la production de l'hyperleucocytose intra-vésiculaire.

Adhérente au tissu hépatique par toute sa face supérieure, la vésicule biliaire, ainsi que nous l'avons dit dans un chapitre précédent, présente en ce lieu des connections vasculaires avec le foie, connections d'autant plus importantes que toutes les autres voies sanguines (et ce sont les plus nombreuses et les plus considérables) sont, du fait même de la ligature du col, oblitérées. Il s'ensuit que l'afflux leucocytaire vient directement du foie.

Or, la quantité de sang traversant les mailles du tissu hépatique est considérable. On a trouvé (1) que chez un homme de 70 kilogrammes, il passait dans le foie 1.750 grammes de sang par minute, soit plus de 100 litres en 1 heure. On voit, par suite, le nombre très élevé de globules blancs circulant dans cette glande. La proximité de la vésicule, qui se trouve directement en continuité avec les vaisseaux du tissu hépatique sur une des faces, doit être une circonstance favorable pour attirer

(1) GLEY, *Physiologie*, article « Foie ».

chez elle l'afflux leucocytaire, si une circonstance quelconque vient en aide à cet exode des leucocytes. Or, les bactéries et leurs produits de sécrétion, à dose modérée, étant doués d'un pouvoir chimiotactique positif, favorisent hautement cette diapédèse.

Il paraît en ressortir que la formation rapide et importante des anticorps, à la suite d'une inoculation antigénique intravésiculaire, serait due partiellement à la position particulièrement favorable de la vésicule dans l'organisme. Située à l'un des plus riches carrefours vasculaires, elle peut détourner très rapidement, sous l'influence de substances attirantes, le flux leucocytaire qui circule dans les mailles de cette énorme éponge qui constitue le foie; elle peut, inversement, répandre dans l'organisme, par les mêmes voies, toutes ces substances actives, tous ces anticorps complexes, ces récepteurs immunisants qui se sont élaborés au sein même de la vésicule.

Si l'on vient à rompre chez un lapin toute communication hépato-vésiculaire, il ne saurait y avoir et il n'y a point, en effet, élaboration d'anticorps.

Exemple : Lapin n° 88, inoculé le 2 novembre intravésiculairement avec une culture cholérique en eau peptonée.

Les adhérences entre le foie et la vésicule ont été déchirées; la vésicule, totalement dégagée, est ligaturée à son col; afin d'entraver la néo-formation de tissus qui pourraient réunir le foie à la vésicule, cette dernière est isolée de la glande hépatique par une membrane de gaze collodionnée.

8, 15, 20 et 30 jours après l'opération, le taux agglutinatif est resté ce qu'il était antérieurement, c'est-à-dire égal à $1/5$.

A l'autopsie, on rencontre une vésicule légèrement atrophiée, recroquevillée, contenant encore des vibrions, mais point de leucocytes.

En résumé, dans mon procédé d'inoculation, tout se ramène à une lutte entre l'antigène inoculé et les leucocytes attirés dans la vésicule, et à la suite de laquelle, si les leucocytes ont le dessus, il y a production d'anticorps.

Les bactéries peu virulentes et les substances inertes, telles qu'hématies, albumines, etc., inoculées dans la vésicule, y restent jusqu'à complète désintégration par les leucocytes. La

réaction leucocytaire que l'on trouve toujours à l'autopsie en est la preuve. Mais si l'on inocule un antigène qui ne tarde pas à se généraliser, les phénomènes leucocytaires intravésiculaires sont réduits à leur strict minimum. Il y a donc là un état leucocytaire très net : avec antigène se généralisant dans l'organisme, réaction leucocytaire nulle localement, mais générale; avec antigène restant localisé dans la vésicule, réaction leucocytaire locale intense et absence de réaction générale appréciable. La formation des anticorps sera en relation directe avec cette réaction leucocytaire.

DEUXIÈME PARTIE

Ayant vu dans leur ensemble les modifications apportées dans les humeurs à la suite d'inoculations antigéniques intravésiculaires, nous allons, dans la deuxième partie de ce mémoire, nous arrêter plus spécialement sur quelques cas, et apprécier les transformations humorales subies par l'organisme, consécutivement à l'inoculation d'antigènes,

soit bactériens,

dont l'évolution dans l'organisme est rapide :

Vibrion cholérique,
Bacille typhique,
Coli-bacille,

ou moins intense :

Bacille tuberculeux,
Sporotrichum;

soit organiques :

Albumine,
Hématies.

CHAPITRE PREMIER

CHOLÉRA

Dans ce chapitre, nous dirons un mot des

Inoculations intraveineuses de vibrion cholérique ;
puis nous aborderons les

Inoculations intravésiculaires, conférant l'immunisation
active, et les

*Inoculations intravésiculaires, suivies d'injections intra-
veineuses*, lesquelles contrôlent cette vaccination et per-
mettent l'hyperimmunisation.

Nous terminerons par la description des

Propriétés du liquide vésiculaire,
et surtout des

Propriétés du sérum : action de coagulation et de lyse
« in vitro et in vivo » conférant l'immunité passive.

INOCULATIONS INTRA VEINEUSES.

Avec les cultures que nous avons utilisées (1), l'inoculation intraveineuse de vibrion cholérique (3/4 à 1 tube de culture sur gélose de 18 à 24 heures à 37 degrés, dilué dans quelques centimètres cubes d'eau physiologique) a toujours déterminé

(1) Culture provenant de l'Institut Pasteur, et portant la mention : Vibrion cholérique. Dnieper, due, ainsi que les autres, à l'obligeance de M. LEGROUX.

la mort chez le lapin adulte. La mort survenait généralement quelques heures après l'injection (1). L'injection faite, le sujet, durant quelques minutes, présente des phénomènes d'excitation, suivis d'abattement, de prostration, qui le conduisent peu à peu au coma. Insensible à ce qui l'entoure, aux aliments, aux personnes qui vont à lui, l'animal est étendu sur le flanc, immobile, les membres flasques, ou est roulé en boule, ramassé sur lui-même, le poil hérissé et froid, et les oreilles tombantes; les pupilles sont très dilatées et les yeux sont demi-clos. Les mouvements respiratoires sont accélérés et très amples; le corps et la tête participent à ces mouvements. La température centrale baisse progressivement, diminuant de $1/2$ à $3/4$ de degré par heure pour atteindre, lorsque la mort est lente à survenir, 33 à 34 degrés. A l'autopsie, les lésions varient suivant que la mort est survenue très rapidement ou un certain temps après l'injection. Dans le premier cas, on ne constate aucune lésion; dans le second, on note une congestion intense uniforme de l'intestin grêle, à contenu diarrhéique, donnant à l'organe une coloration rose et rarement hortensia, une congestion légère du cæcum et de l'appendice, accompagnée de piqueté hémorragique extrêmement net, particulièrement saisissant et fréquent dans ce dernier organe. Le péritoine est très vascularisé, et un liquide, plus ou moins clair et en plus ou moins grande abondance, remplit la cavité péritonéale.

INOCULATIONS INTRAVÉSICULAIRES.

L'inoculation intravésiculaire de vibrions cholériques vivants et virulents ne provoque point la mort de l'animal. Les vibrions utilisés provenaient de culture sur gélose à 37 degrés et âgés de 18 à 24 heures. La quantité que nous inoculions était très variable : dans nos premières expériences, nous inoculâmes des doses extrêmement élevées, un

(1) Dans un certain nombre de cas, la mort survint quelques minutes après l'inoculation. Elle était due, selon toute probabilité, aux toxines contenues dans le liquide injecté et non au milieu de culture (gélose) inoffensif chez les animaux témoins.

tube de culture totale; les résultats furent, quelquefois, la mort de l'animal par septicémie en 36, 48 ou 52 heures; donc avec un retard très net sur les témoins. Plus tard, nous diminuâmes notablement la quantité de culture et nous remplaçâmes le milieu primitif neutre par du bouillon, ou mieux de l'eau peptonée. Finalement, nousensemencions extemporanément 1 centimètre cube d'eau peptonée avec une öse de culture cholérique de 24 heures à 37 degrés et nous inoculions le mélange, pour ainsi dire à « l'état naissant », dans la vésicule.

L'addition de glucose à l'eau peptonée dans la proportion de 1 p. 100 nous a donné des résultats défavorables, causant la mort de l'animal avec des symptômes spéciaux que nous ne rencontrâmes jamais dans tous les autres cas d'intoxication cholérique : convulsions et tétanisation intense de tout le corps apparaissant 24 heures après l'inoculation, pour se maintenir jusqu'à la mort de l'animal, qui ne survenait qu'après une longue agonie en hyperthermie et après redoublement de convulsions et de symptômes d'asphyxie (congestion des conjonctives, mouvements respiratoires saccadés et tumultueux). A l'autopsie, nous rencontrâmes les lésions banales d'intoxication cholérique analogues à celles des témoins qui jamais n'offrirent ces formes convulsives.

Les symptômes présentés chez les animaux inoculés intravésiculairement se réduisent à peu près à rien. On note, dans les 24 à 36 heures qui suivent l'opération, une très légère élévation de température et un peu d'abattement, mais le choc opératoire consécutif à une laparotomie peut suffisamment expliquer des phénomènes d'ailleurs légers et fugaces.

Le passage des vibrions dans les capillaires de la vésicule, et de là dans la circulation générale, est extrêmement variable, et ne paraît soumis à aucune règle. Ces variations sont intéressantes en ce sens qu'elles ne paraissent en rien retentir sur la valeur de l'immunisation. Tantôt l'animal meurt avec lésions intestinales cholériformes en 48 heures, et le vibron est absent du sang; tantôt le bacille abonde dans la circulation périphérique et l'animal ne présente aucune réaction.

Voici d'ailleurs un tableau résumant quelques cas :

N ^{os}	PASSAGE dans le sang.	SÉRUM agglutine à :	RÉSULTATS	NATURE DE L'INJECTION INTRAVÉSICULAIRE
70	Pos.	1 p. 300	Vivant.	Bile retirée. 1/8 culture totale.
67	Pos.	»	Mort.	Bile laissée partiellement. 1 öse de vib. chol.
25	Nég.	1 p. 250	Vivant.	Bile retirée. 1 c. c. d'eau peptonée ensemencée avec 1 öse de vib. chol.
77	Pos.	1 p. 2500	Vivant.	<i>Idem.</i>
8	Nég.	1 p. 1000	Vivant.	<i>Id.</i> Quantité plus faible de vib. chol.
71	Nég.	1 p. 1000	Vivant.	1 tube de culture totale en eau phys.
68	Nég.	1 p. 100	Vivant.	Vésicule vidée. 1 c. c. d'eau peptonée avec 1 öse de cult. chol.
55	Nég.	»	Mort.	Bile retirée. Vib. chol. ensemencant de l'eau peptonée glucosée.
80	Nég.	»	Mort.	<i>Idem.</i>
73	»	»	Mort.	Bile retirée. Ensemencement de vib. chol. essence de térébenthine en faible quantité.
79	Nég.	1 p. 250	Vivant.	<i>Id.</i> , mais avec essence de térébenthine en forte quantité.
69	Nég.	1 p. 500	Vivant.	Bile retirée. Culture tuée, 1/8 de tube, choléra en eau physiologique.
57	Pos.	»	Mort.	Bile laissée totalement. <i>Idem.</i>
72	»	1 p. 100	Vivant.	Bile retirée. Ensemencement de vib. chol. dans du bouillon.
59	Nég.	1 p. 750	Vivant.	Bile retirée. Vib. chol. 1 öse en eau phys.
21	Nég.	1 p. 400	Vivant.	Bile retirée. 1/4 d'öse chol. ensemencée en eau peptonée.

D'une façon générale, on peut dire que le vibrion ne passe qu'exceptionnellement dans le sang à la suite d'inoculations intravésiculaires; mais la quantité de bacilles inoculés primitivement paraît être un facteur accessoire pour cette généralisation; le milieu dans lequel ils se développent est plus important, milieu agissant par sa constitution chimique favorable à la culture du bacille et par certaines propriétés qui

entravent l'arrivée des phagocytes microphages. Quoi qu'il en soit, le vibron cholérique ne fait qu'un court passage dans l'organisme : à la suite d'inoculations intraveineuses et 48 heures seulement après ces inoculations, toute recherche du vibron demeurait négative, soit dans le sang (essais sur 5 cent. cubes), soit dans les urines (essais sur 1 cent. cube), soit dans les selles (essais sur 1 gr.), parensemencements en eau peptonée.

En sacrifiant un des animaux inoculés intravésiculairement, on ne constate aucune lésion organique ; tous les organes sont normaux, comme aspect extérieur, coloration, poids, etc. La vésicule biliaire seule présente des modifications qui sont analogues à celles que nous avons décrites dans la première partie de cet ouvrage, et sur lesquelles nous ne reviendrons point.

INOCULATIONS INTRAVÉSICULAIRES SUIVIES D'INJECTIONS INTRAVEINEUSES.

L'injection intraveineuse de culture de vibrions vivants et virulents chez un lapin vacciné intravésiculairement ne déchaîne aucun phénomène morbide, alors que les animaux témoins meurent en l'espace de quelques heures par intoxication cholérique.

Les expériences ayant conduit à cette formule, maintes fois répétées, ont toujours donné des résultats identiques, que nous pouvons résumer ici en prenant un type moyen.

Exemple : Lapin n° 79, inoculé dans la vésicule le 30 septembre avec 1/2 centimètre cube de bouillonensemencé extemporanément avec une culture cholérique de 24 heures sur gélose à 37 degrés.

Le 3 novembre, c'est-à-dire un mois plus tard, inoculation intraveineuse de 1 tube de culture cholérique de 48 heures sur gélose à 37 degrés diluée dans 40 centimètres cubes d'eau physiologique.

L'animal témoin, lapin n° 56, meurt en hypothermie 6 heures après l'injection intraveineuse de vibron cholérique, avec les signes d'intoxication cholérique suraiguë.

Le lapin n° 79, vacciné, ne présente aucune réaction de poids et de température, soit immédiatement, soit plusieurs heures ou plusieurs jours après l'injection intraveineuse.

On peut en déduire qu'il était suffisamment vacciné pour supporter sans réagir une dose mortelle de culture cholérique.

Les résultats n'ont pas toujours été aussi typiques. Il faut que l'animal soit suffisamment immunisé et la valeur de cette immunisation peut échapper, puisque aucun moyen de contrôle n'existe pour la mettre en évidence, si ce n'est précisément l'injection intraveineuse. Cependant l'agglutination paraît fournir quelques données précieuses ; et si, sur les 22 animaux mis en expérience, 2 inoculés intravésiculairement, puis secondairement dans les veines, sont morts, encore qu'avec un retard très prononcé sur les témoins l'agglutination aurait pu peut-être permettre de prévoir cet échec, puisque le taux agglutinatif du sérum ne s'était élevé un mois après l'inoculation intravésiculaire qu'à 1 p. 25.

Mais ce ne sont là que des exceptions et, d'une façon générale, tout animal suffisamment vacciné intravésiculairement, c'est-à-dire présentant un sérum capable d'agglutiner à 1 p. 100, pourra supporter, lorsque ce taux sera atteint, c'est-à-dire 8 à 12 jours après l'inoculation, une dose mortelle intraveineuse de vibrions.

HYPERIMMUNISATION.

Si quelques jours après, au même animal, on refait une nouvelle injection intraveineuse avec la même dose de vibron cholérique, on arrive à produire une hyperimmunisation très nette.

Exemple : Lapin n° 38, le 30 mai, inoculation intravésiculaire de bouillonensemencé avec une culture cholérique ; il ne présente aucune réaction générale.

Le 3 juillet, il reçoit en injection intraveineuse un tube de culture de vibron sur gélose à 37 degrés de 24 heures.

Le 6 juillet, nouvelle injection identique à la précédente ; réaction fébrile pendant 24 heures.

L'animal à la suite de cette double injection est totalement immunisé. Le taux de l'agglutination de son sérum passe, en

l'espace de quelques jours, de 1 p. 100 à 1 p. 30.000. Ce sérum offre des propriétés immunisantes très prononcées, comme nous allons le voir dans le chapitre suivant.

PROPRIÉTÉS DU LIQUIDE VÉSICULAIRE.

Nous savons que la vésicule biliaire présente en son intérieur, bientôt après l'inoculation cholérique, un liquide blanc crémeux, plus ou moins épais suivant l'époque d'inoculation, et ne renfermant plus de vibrions après un temps relativement court. Les frottis sur lames, les ensemencements en eau peptonée et les inoculations demeurent toujours négatifs.

Toutefois un point paraît intéressant : ce liquide, dépourvu alors de bactéries, lourdement chargé de globules blancs, dont quelques-uns sont en voie de dégénérescence, dont les autres sont encore en pleine activité (la proportion des uns aux autres variant en sens inverse au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la date d'inoculation), n'est pas un liquide indifférent, neutre.

Si l'on inocule à un cobaye (cobaye 53) dans la cavité péritonéale, tout le contenu, âgé de 1 mois, de la vésicule biliaire d'un lapin, dont le sérum agglutine à 1 p. 500, l'animal ne présente aucune réaction générale. Mais si, 6 jours après, l'on inocule dans cette même cavité péritonéale quelques centimètres cubes d'eau physiologique, contenant en suspension 1/2 tube de vibron cholérique, âgé de 24 heures sur gélose à 37 degrés, l'animal ne présente, cette fois encore, aucune réaction.

Et cependant tout autre cobaye qui reçoit seulement cette demi-culture cholérique meurt certainement en l'espace de 18 à 24 heures. De même mourra tout cobaye dont l'inoculation vibrionienne, intrapéritonéale, sera précédée 6 jours auparavant de quelques gouttes d'un liquide favorisant l'hyperleucocytose, tel que 1 centimètre cube d'eau peptonée glucosée, comme on peut le constater par le tableau ci-après.

Le fait d'avoir fait précéder de 6 jours au moins l'injection vibrionienne par l'injection du liquide vésiculaire, doit faire écarter l'hypothèse d'une de ces hyperleucocytoses péritonéales

si faciles à déterminer chez le cobaye, et également très rapide dans leur évolution, puisque, atteignant leur maximum vers la vingtième heure, elles sont totalement évanouies vers le 3^e jour.

INJECTIONS INTRAPÉRITONÉALES		
1 ^{er} jour.	7 ^e jour.	Résultats.
Liquide vésiculaire.	Vibron cholérique (dose mortelle).	Vivant.
Eau peptonée glucosée.	Id.	Mort en 18 heures.
Pas d'injection.	Id.	Id.

PROPRIÉTÉS DU SÉRUM.

Le sérum, obtenu par les procédés cités dans les chapitres précédents, présente les propriétés que l'on rencontre dans tout sérum immunisant, préparé avec les corps bactériens et avec des toxines.

Il diffère donc des sérums anticholériques obtenus habituellement par ce fait qu'il est non seulement antibactérien, mais également antitoxique.

Avec ces deux propriétés fondamentales, se manifestent d'une part les pouvoirs agglutinants, bactéricides et sensibilisateurs, d'autre part le pouvoir précipitant.

Agglutination. — L'agglutination étant le phénomène le plus simple à constater, le plus facile à évaluer d'une façon précise, nous avons, afin de déterminer l'état d'immunisation active ou passive des animaux, procédé à la recherche du taux agglutinatif des sérums. Quoique l'agglutination ne soit qu'un phénomène contemporain de l'immunisation et non en rapport avec la valeur propre de cette immunisation, cependant, d'une façon générale, dans tous les cas que nous avons relatés, le pouvoir préventif du sérum s'est montré nettement parallèle à son taux agglutinatif.

A la suite de l'inoculation intravésiculaire, le taux aggluti-

natif, qui préalablement chez un lapin neuf varie entre 0 et 1 p. 5, commence à s'élever du 5^e au 8^e jour, atteint son maximum du 8^e au 12^e ou 15^e, pour, à partir de cette époque, rester généralement stationnaire (1).

A la suite d'injections intraveineuses consécutives à une inoculation intravésiculaire, le taux agglutinatif augmente

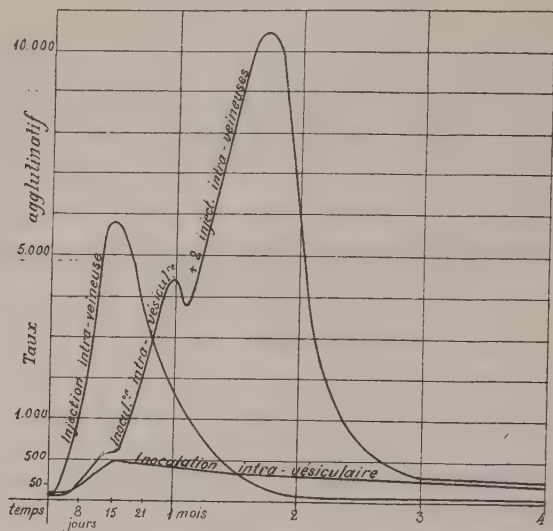


FIG. 5.

dans des proportions beaucoup plus élevées et surtout avec plus de rapidité.

L'hyperimmunisation serait donc obtenue plus vite et plus intensément que l'immunisation première. C'est ce que montre la figure 5, où l'on voit nettement la marche ascendante du taux agglutinatif.

(1) Pour déterminer le taux agglutinatif, nous devons décrire le procédé employé, puisque, suivant la méthode à laquelle on a recours, on obtient des résultats différents : On ajoute à un tube de culture de vibrions sur gélose de 24 heures à 37 degrés, 20 centimètres cubes d'eau physiologique, puis on agite, de façon que la couche microbienne soit totalement diluée dans l'eau. On filtre sur papier. On met 18 gouttes de culture dans des tubes analogues à ceux employés pour la réaction de Wassermann, puis on ajoute 2 gouttes de sérum : on a une dilution à 1 p. 10. 2 gouttes de ce mélange dans 18 gouttes de culture donnent une dilution à 1 p. 100, et ainsi de suite. On laisse deux heures à l'étuve à 37 degrés, après quoi on vérifie macroscopiquement et microscopiquement l'agglutination.

Pouvoir bactériolytique. — Le sérum frais ne limite pas sa puissance *in vitro* dans l'agglutination en amas floconneux et neigeux des cultures de vibrions en suspension dans l'eau physiologique; mais, bactéricide et bactériolytique, il transforme les vibrions déjà immobilisés en granules tendant à se dissoudre dans le milieu ambiant (exp. de Bordet) et il les lyse totalement. Lesensemencements, par le procédé de Nicolle; restent la plupart, après quelques heures, négatifs.

Pouvoir sensibilisateur. — Le sérum frais renferme des sensibilisatrices, mises en évidence par la méthode de Bordet et Gengou. Ces sensibilisatrices se sont toujours montrées en abondance dans tous les sérums essayés en procédant d'après la tableau suivant classique.

ÉMULSION de vibrions.	SÉRUM anti- cholérique chauffé à 53 degrés 1/2 heure.	ALEXINE fraîche de cobaye diluée 50 p. 100.	EAU PHYSIOLOGIQUE	GLOBULES de moutons dilués à 1 p. 20.	SÉRUM hémolytique lapin anti-mouton. chauffé 1/2 heure à 55 degrés.	RÉSULTATS
c. cubes. 0,2	cent. cubes. 0,1	cent. cubes. 0,1	c. cubes. 0,5	cent. cubes. 1	cent. cubes. 0,1	Pos.
T. 0,2	0,1	0,1	0,5	1	"	Nég.
T. 0.2	0,1	"	0,6	1	0,1	Nég.

Pouvoir précipitant. — Le sérum frais renferme enfin des précipitines. A 10, 20 et même 30 gouttes de toxine cholérique, on ajoute 1 goutte du sérum de l'animal 44 (agglutinant à 1 p. 1.000); après une demi-heure à la température du laboratoire, on obtient un léger louche dans les tubes renfermant le mélange, alors que les tubes témoins conservent toute leur limpidité.

Ces différents pouvoirs constatés *in vitro* témoignent la plupart du temps de propriétés antibactériennes et antitoxiques d'un sérum *in vivo*. Et de fait, les expériences suivantes sur l'animal prouvent la présence de ces anticorps.

Pouvoir antibactérien. — (Bactério-agglutinines et sensibilisatrices ou philocytales, ou ambocepteurs ; et alexines, ou cytales, ou compléments, ou lysines).

Le sérum protège le cobaye contre la péritonite cholérique (expérience positive de Koch). Si on injecte à un cobaye dans le péritoine 1/2 culture de vibrions cholériques sur gélose à 37 degrés de 18 heures et diluée dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique, on sait que l'animal meurt en 18 à 24 heures en hypothermie, après avoir présenté du collapsus et des convulsions. A l'autopsie, on trouve un intestin congestionné, teinte hortensia, et du liquide péritonéal en plus ou moins grande abondance.

EXPÉRIENCE I. — Si l'on ajoute à une dilution semblable de vibrions 2 centimètres cubes de sérum, et que l'on mette ce mélange à l'étuve à 37 degrés durant 1 heure, on peut l'inoculer dans la cavité péritonéale d'un cobaye, sans déterminer la mort, ou même sans provoquer de phénomènes réactionnels.

EXPÉRIENCE II. — Il en sera de même si le sérum a été injecté seul dans le péritoine 24 heures avant la culture. Les vibrions sont agglutinés, transformés en granules, dissous partiellement (phénomène de Pfeiffer). Ces résultats étaient à prévoir d'après les réactions *in vitro*. Mais, bien que celles-ci soient extrêmement nettes et généralement intenses, on ne peut nullement en déduire la valeur thérapeutique ou préventive d'un sérum puisque « le sérum d'un animal fortement immunisé est toujours plus agglutinant *in vitro* qu'il n'est préventif vis-à-vis de la péritonite vibrionienne, plus antitoxique vis-à-vis de l'intoxication cholérique expérimentale qu'il n'est précipitant *in vitro*. Cela veut dire, en d'autres termes, que le pouvoir préventif n'est pas fonction exclusive du pouvoir agglutinant, comme le pouvoir antitoxique n'est pas fonction du pouvoir précipitant ». (Salimbeni.)

EXPÉRIENCE III. — Enfin, lorsque l'inoculation de sérum est faite préventivement sous la peau, les résultats sont encore positifs.

Exemple : Inoculation sous-cutanée à un cobaye, 48 heures

avant l'injection intrapéritonéale vibrionienne, de 5 centimètres cubes de sérum agglutinant *in vitro* à 1 p. 2.000. L'animal résiste ; le témoin meurt.

Toutefois, l'on sait que rien n'est plus facile que de protéger le cobaye contre la péritonite cholérique. Il suffit de lui injecter dans la cavité péritonéale au préalable quelques gouttes de bouillon, d'eau peptonée, d'eau glucosée, ou simplement d'eau physiologique. On détermine ainsi une arrivée de leucocytes *in situ* capables d'enrayer l'évolution morbide. D'autre part, la réaction péritonéale n'est point proportionnelle à la virulence du vibron. L'expérience II n'est donc pas probante. Au contraire, les expériences I et surtout III conservent toute leur valeur.

Une expérience beaucoup plus sévère consiste à faire les réactions sur des lapins en procédant par inoculation intraveineuse.

Si on injecte dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin un mélange laissé préalablement 1 heure à l'étuve à 37 degrés et constitué par une culture de vibrions cholériques âgée de 18 heures sur gélose à 37 degrés, diluée dans 5 centimètres cubes d'eau physiologique et additionnée de 2 à 3 centimètres cubes de sérum immunisant, l'animal ne présente qu'une très faible réaction se traduisant par une légère hyperthermie durant quelques heures (1), et par un léger abattement. Puis il se remet complètement et définitivement.

Les témoins meurent dans l'espace de quelques heures en hypothermie, par suite d'intoxication et d'infection suraiguës.

Si, au lieu d'injecter d'emblée un mélange de sérum et de vibrions, on inocule, 24 heures avant l'injection intraveineuse de vibrions, le sérum en injection également intraveineuse, les résultats sont comparables : le témoin meurt ; l'animal immunisé survit, ayant peut-être présenté encore moins de

(1) Lapin 31 :

Température avant l'injection	39°5
1 heure après l'injection	39°5
3 heures après l'injection	41°8
5 — après l'injection	41°
20 — après l'injection	39°7
30 — après l'injection	39°5
40 — après l'injection	39°5

phénomènes réactionnels que l'animal qui a reçu d'emblée le sérum et la culture mélangés.

Ces expériences permettent de dire que le sérum est nettement antibactérien, puisque, injecté préventivement, il est capable d'empêcher l'éclosion des phénomènes cholériformes provoqués par l'injection de cultures virulentes.

Ajoutons que l'animal qui a reçu le mélange : vibron + sérum, sans offrir de réaction générale, n'est point capable par contre de fournir un sérum doué de propriétés bactéricides. Son sang ne présente aucun des caractères des sérums immunisants : dans notre expérience, 12 jours après l'inoculation du mélange précité, ce sang ne renfermait ni agglutinines, ni précipitines, ni sensibilisatrices, ni antitoxines. Inoculé à cette époque avec une culture pure, vibriennienne, identique à celle qu'il reçut la première fois, l'animal a conservé sa sensibilité antérieure vis-à-vis du choléra ; lui et le témoin se comportent de même, mourant tous deux en hypothermie, d'intoxication cholériforme avec lésions intestinales plus ou moins prononcées suivant la rapidité de l'évolution morbide.

Il en résulte que l'animal n'était pas immunisé, quoique ou plutôt précisément parce que le sérum ajouté aux vibrions ainsi sensibilisés était en trop grande quantité, et comme l'a dit Besredka (1) : « lorsqu'il se trouve en excès, les microbes injectés en même temps que lui traversent l'organisme sans que l'animal en garde le moindre souvenir ».

Autrement dit, dans ces conditions, la conservation de la sensibilité à l'intoxication cholérique, la mort lors d'une seconde injection vibriennienne, prouvent nettement que les principes toxiques et les vibrions contenus dans le mélange antérieur avaient été nettement détruits et neutralisés par ce sérum [expérience positive des réactions paradoxales de R. Pfeiffer et Friedberger] (2).

Pouvoir antitoxique. — Afin de déterminer le pouvoir antitoxique des sérums, nous avons eu recours à deux sortes d'expériences, en faisant agir le sérum sur :

1° La toxine préparée artificiellement ;

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1902, p. 922.

(2) *Berliner Klin. Wochenschrift*, 1902, n° 25.

2° La toxine fabriquée naturellement par l'organisme (choléra expérimental).

1° a) La méthode de Roux, Metchnikoff et Salimbeni pour la préparation de la toxine cholérique ne nous a fourni qu'un liquide très faiblement toxique; et cette toxicité très atténuée est peut-être due au pouvoir toxigène restreint du vibron que nous avions.

b) La méthode de Brau et Denier que nous employâmes ensuite nous a donné des résultats à peu près analogues.

Nous n'obtinmes jamais une toxine normale, moyenne, équivalente à celle de Salimbeni, c'est-à-dire déterminant la mort du cobaye par la seule injection sous-cutanée de 1 centimètre cube. Nous dûmes avoir recours à des doses 10 ou 20 fois plus fortes pour obtenir la mort en 48 à 52 heures, et dans quelques cas les témoins survécurent.

Toutefois, dans leur ensemble, en opérant sur un nombre relativement élevé de cobayes (16), nous pûmes nous rendre compte que le mélange de sérum et de toxine était indifférent à l'animal, et que l'inoculation préventive de sérum empêchait tout développement de phénomènes morbides lors d'une injection de toxine faite 12 ou 24 heures après; les témoins par contre, étaient sérieusement éprouvés, et un certain nombre mouraient.

c) L'autolysat de cultures cholériques d'après la méthode de Strong (1) nous a donné des résultats analogues, mais en employant également, vu le faible pouvoir toxigène de nos cultures, des doses beaucoup plus fortes que celles qui sont généralement usitées.

2° Nous essayâmes ensuite le sérum, non plus sur une toxine plus ou moins virulente et ne se rapprochant peut-être que vaguement des produits élaborés par le vibron cholérique au niveau de l'intestin et lancés de là dans l'organisme, mais sur l'animal atteint de choléra, c'est-à-dire précisément sur cette toxine diffuse en tous points.

Pour provoquer le choléra expérimental, nous employâmes le procédé de Metchnikoff (2), qui consiste, comme l'on sait, à

(1) Publications of the bureau of government. Lab. biolog. laborat., n° 16, 1904, Manille.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894.

faire ingérer à de jeunes lapins à la mamelle, âgés de 2 à 6 jours, des cultures cholériques associées à des espèces microbiennes favorisantes et principalement une sarcine et une torula (ou cryptococcus) à raison de 1 tube de culture de 18 heures à 37 degrés sur gélose, de chacune de ces bactéries : choléra, sarcine et torula. La mort arrive entre 40 et 60 heures, généralement en hypothermie; à l'autopsie on trouve des lésions typiques congestives de l'intestin avec teinte hortensia de l'intestin grêle, rempli d'un contenu diarrhéique et de grains riziformes blanc jaunâtre ou jaune d'or; de la distension de la cavité abdominale contenant un liquide louche, séreux, etc.

La difficulté de nous procurer de petits lapins a limité le nombre de nos expériences; nous avons fait 5 essais que voici, brièvement résumés :

Premier essai. — 11 mai. Sérum frais, agglutinant à 1 p. 1.000, provenant du lapin n° 8 inoculé intravésiculairement 1 mois auparavant; ce sérum est injecté sous la peau à raison de 2,5 centimètres cubes par animal, 48 heures avant l'ingestion du mélange choléra-sarcine-torula.

Age des lapins au moment de l'ingestion : 52 heures.

Ayant reçu le sérum 2 lapins.

Ayant reçu le choléra seul 2 —

N'ayant reçu ni choléra ni sérum 1 lapin.

Les 2 témoins (choléra seul) meurent, l'un 36, l'autre 48 heures après l'ingestion. Les 3 autres survécurent, indemnes.

Deuxième essai. — 8 novembre. Sérum frais agglutinant à 1 p. 2.500, provenant d'un lapin hyperimmunisé (inoculation intravésiculaire suivie de 2 injections intraveineuses). Ce sérum est inoculé à raison de 3,5 centimètres cubes sous la peau de chacun des animaux 48 heures avant l'ingestion du mélange (choléra-sarcine-torula).

Age des lapins au moment de l'ingestion : 36 heures.

Ayant reçu le sérum 4 lapins.

Ayant reçu le choléra seul 2 lapins.

N'ayant reçu ni sérum ni choléra 1 lapin.

Les 2 témoins (choléra seul) meurent, l'un 24, l'autre 30 heures après l'ingestion, avec lésion cholérique typique. Un

animal ayant reçu le sérum meurt 52 heures après l'ingestion cholérique. Les 4 autres survécurent, bien portants.

Troisième essai. — 12 novembre. Sérum frais, agglutinant à 1 p. 100 seulement, provenant d'un lapin immunisé intravésiculairement ; ce sérum est injecté sous la peau des lapins à raison de 2,5 centimètres cubes, 24 heures avant l'ingestion du mélange cholérique.

Age des lapins au moment de l'ingestion : 70 heures.
Ayant reçu le sérum 3 lapins.
Ayant reçu le choléra seul 1 lapin.
N'ayant reçu ni sérum ni choléra 1 —

Les 4 premiers lapins meurent, le témoin en 24 heures et les autres en 36, 50 et 62 heures.

Quatrième essai. — 18 novembre. Sérum frais agglutinant à 1 p. 10.000 provenant d'un animal hyperimmunisé. Ce sérum est inoculé à raison de 4 centimètres cubes sous la peau, 12 heures avant l'ingestion du mélange.

Age des lapins au moment de l'ingestion : 28 heures.
Ayant reçu le sérum 2 lapins.
Ayant reçu le choléra seul 2 —

Les 2 témoins (choléra seul) meurent en 26, 30 heures.

Les 2 autres résistent, sans avoir présenté aucun symptôme morbide.

Cinquième essai. — 30 novembre. Sérum frais agglutinant identique à celui du quatrième essai. Ce sérum est inoculé à raison de 2 et 4 centimètres cubes sous la peau 2 heures et 12 heures avant l'ingestion du mélange.

Age des lapins au moment de l'ingestion : 32 heures.
Ayant reçu 2 cent. cubes de sérum (2 heures avant) . . 2 lapins.
Ayant reçu 4 cent. cubes de sérum (12 heures avant) . . 2 —
Ayant reçu le choléra seul 2 —

Les deux témoins meurent en 24 heures.

Des lapins ayant reçu le sérum 2 heures auparavant, l'un meurt, l'autre résiste. Les deux autres résistent également.

Nous ne devons point tenir compte du troisième essai. Un

sérum agglutinant à 1 p. 100 seulement, n'ayant présenté aucune propriété antitoxique *in vitro*, ne devait point protéger contre l'intoxication cholérique expérimentale. Nous n'en fîmes l'essai que par la raison qu'au moment où nous eûmes à notre disposition ces jeunes lapins, nous n'avions pas d'autre sérum sous la main.

Il résulte donc, cet essai mis à part, que le sérum convenablement préparé est nettement antitoxique, non seulement *in vitro* mais encore *in vivo*.

Le sérum obtenu par l'inoculation intravésiculaire de vibrions cholériques est donc doué de propriétés immunisantes. Il est antibactérien et antitoxique. Le fait est intéressant parce que tout sérum cholérique antitoxique est exclusivement obtenu au moyen d'inoculation de toxines cholériques (sérum de Metchnikoff, Roux et Salimbeni), préparées par injections de toxine cholérique dans les veines du cheval.

Le sérum de Pfeiffer, préparé avec des corps vibrioniens, a de très grandes propriétés bactéricides : il protège efficacement le cobaye contre la péritonite cholérique ; par contre, il ne manifeste aucun pouvoir antitoxique : il ne paraît point pouvoir immuniser les jeunes lapins contre l'ingestion de vibrions.

Les expériences qui précèdent démontrent que l'on peut provoquer la formation d'antitoxines dans l'organisme d'un animal qui ne reçoit en injections vaccinales que des corps microbiens, résultat à rapprocher de celui que l'on obtient avec le sérum antipesteux, également antitoxique et pourtant exclusivement préparé avec des bacilles pesteux.

CHAPITRE II

BACILLE TYPHIQUE

L'inoculation intravésiculaire de bacilles typhiques (1) provoque, chez l'animal auquel on a fait l'opération, la formation d'anticorps spécifiques.

Exemple : lapin n° 2, reçoit le 12 avril, dans la vésicule biliaire, 1 centimètre cube d'une culture de bacille d'Eberth en bouillon de 24 heures à 37 degrés.

Le 21 avril, c'est-à-dire 8 jours après l'inoculation, le sérum, qui avant l'opération ne présentait aucun pouvoir agglutinatif, agglutine à 1 p. 750, et le 29 avril à 1 p. 1.000.

Un lapin témoin, ayant reçu la même quantité de bacilles, mais en injection intrapéritonéale, présentait, 8 jours après, un taux agglutinatif n'atteignant point 1 p. 50.

L'animal, opéré intravésiculairement, ne montre à aucun moment des phénomènes réactionnels ; le poids, la température restent normaux.

4 mois après, le taux agglutinatifs'était maintenu à 1 p. 1.000 ; aucune des propriétés immunisantes n'avait disparu.

A cette époque, l'animal, bien portant, ayant augmenté de 400 grammes, est sacrifié. On ne trouve aucune lésion organique ; le foie, la rate, les reins, les poumons, le péritoine sont normaux. Mais la vue est attirée par la vésicule biliaire, formant une tumeur énorme, blanche, contrastant sur le fond rouge hépatique. Elle est de la grosseur d'un œuf de poule, à parois dures, blanches, fibreuses, épaissies. A l'intérieur de cette tumeur, on trouve le liquide habituel, décrit précédemment,

(1) Culture provenant de l'Institut Pasteur.

mais en proportion inaccoutumée (40 cent. cubes); les ensemencements restent stériles.

Le sérum de ce lapin n° 2 a été essayé sur de jeunes lapins âgés de 1 mois et inoculés intrapéritonéalement avec des cultures typhiques, à raison de 3 et 4 centimètres cubes de culture en bouillon de 48 heures à 37 degrés. Le sérum avait été inoculé l'avant-veille sous la peau à raison de 4 centimètres cubes, et dans la cavité intrapéritonéale à raison de 2 centimètres cubes.

Dans les 8 expériences faites, les 2 témoins moururent, 18 à 25 jours après, de cachexie, due sans doute à l'élaboration de

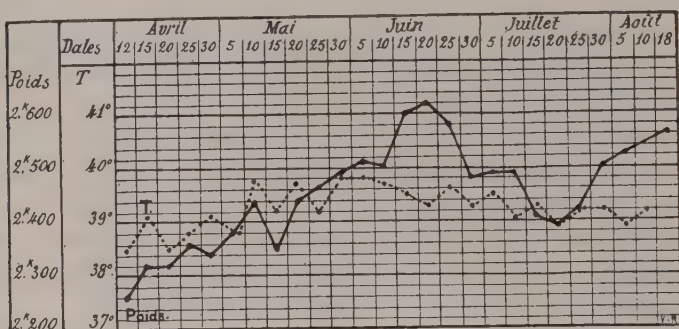


FIG. 6.

toxines typhiques, tandis que les animaux, traités préventivement avec le sérum, survécurent.

Les bacilles que nous employâmes, malgré les tentatives d'exaltation de virulence par les passages en séries chez le cobaye et par des cultures en sacs (Chantemesse et Widal), (Chantemesse et Balthazard), n'atteignirent jamais, quoique possédant des propriétés toxiques certaines, une virulence très grande; ceci explique la mort lente des témoins.

Le même sérum, essayé comme agent neutralisateur de la toxine typhique, a donné des résultats analogues.

La toxine, préparée suivant la méthode de Conradi, tuait les témoins en injection intrapéritonéale, et préservait les animaux qui, dans la cavité péritonéale, avaient reçu 48 heures auparavant le sérum immunisant, ou recevaient extemporanément un mélange de sérum et de toxine laissé préalablement 2 heures

à 37 degrés. Les animaux témoins moururent presque tous (4 sur 5) lentement, quoique la toxine fût injectée en quantité très grande : 5 centimètres cubes pour de jeunes lapins de 650 à 700 grammes ; on dépassait ainsi de beaucoup les doses mortelles employées par Conradi (0,2 cent. cube) en injection intrapéritonéale chez le cobaye.

Avant de terminer ce chapitre, rapportons un fait qui peut être rapproché de ceux que nous avons relatés précédemment, dans la première partie.

Le lapin n° 1, inoculé intravésiculairement le 12 avril, fournissait, 8 jours après l'opération, un sérum agglutinant à 1 p. 750. Les 15^e, 20^e et 30^e jour, le taux agglutinatif était resté identique.

Le 1^{er} juillet, c'est-à-dire après 2 mois et demi, le taux agglutinatif était redescendu à 1 p. 5, chiffre initial.

Le sérum du lapin n° 2 inoculé le même jour que le lapin n° 1 présente, un mois après l'opération, un pouvoir agglutinant égal à 1 p. 1.000, taux qu'il maintenait encore le 1^{er} juillet.

A l'autopsie, le lapin n° 1 ayant été sacrifié, on remarque que tous les organes sont sains, mais que la vésicule biliaire n'offre pas les dimensions qu'on s'attendait à lui trouver ; petite et recroquevillée, elle présente sur une de ses faces un pertuis, signe d'une rupture antérieure.

De ce fait, il semble résulter que les anticorps ne se fabriquent et ne restent en circulation dans l'organisme qu'autant que la vésicule qui les engendre subsiste indemne. Si, pour une cause quelconque, la vésicule se rompt, les antigènes se répandent dans la cavité péritonéale ; là, surtout lorsque l'inoculation a eu lieu très longtemps avant, et qu'ils sont ou atténués ou en faible proportion, ils ne causent qu'une réaction infime et ils disparaissent résorbés ou éliminés. De nouveaux anticorps ne peuvent se former, et quant à ceux qui sont répandus dans l'organisme, ils ne tardent pas à disparaître également.

CHAPITRE III

COLIBACILLE

L'inoculation intravésiculaire de colibacilles (1) ne détermine point chez le lapin la formation d'anticorps.

Les expériences faites à ce sujet ont été négatives.

1 centimètre cube d'eau peptonéeensemencée avec du colibacille (culture sur gélose à 37 degrés de 24 heures) est inoculé dans la vésicule biliaire.

Le taux agglutinatif, de 1 p. 5 avant l'opération, reste le même 8, 15, 20 et 30 jours après l'inoculation.

A l'autopsie : organes normaux; vésicule pourtant légèrement hypertrophiée, à parois épaissies, fibreuses, dures à la coupe et contenant dans son intérieur un liquide blanc, crémeux, constitué par des leucocytes. Pas de colibacilles.

Le colibacille employé était virulent, du moins pour le cobaye, puisque 1/2 centimètre cube d'une culture en bouillon de 24 heures à 37 degrés en injection intrapéritonéale tuait l'animal en 12 heures avec des lésions caractéristiques.

Cette expérience a été répétée 3 fois et a donné toujours les mêmes résultats.¹

(1) Culture provenant de l'Institut Pasteur et portant la mention « Colibacille, Loire ».

CHAPITRE IV

TUBERCULOSE AVIAIRE

Nous suivrons dans ce chapitre le même ordre que dans celui du choléra, étudiant d'abord les réactions consécutives aux

Injectons intraveineuses,

puis aux

Inoculations intravésiculaires,

et aux

Inoculations intravésiculaires suivies d'injections intraveineuses.

Nous terminerons par la description des

Propriétés du sérum.

Dans tous les cas qui vont être cités, les cultures employées furent toujours celles de bacilles de tuberculose aviaire (1) provenant de l'Institut Pasteur, et cultivées à 37 degrés.

Dans les premiers essais que nous fîmes, nous utilisâmes le bacille bovin, mais les réactions étant ou trop faibles ou inconsistantes, et n'amenant pas, dans un laps de temps déterminé et relativement court, la mort chez les témoins, nous y renoncâmes.

(1) Ces cultures tuaient le cobaye en inoculation sous-cutanée, avec présence de bacilles dans les organes.

Nous avons d'abord utilisé, tantôt des cultures sur pommes de terre glycélinées à 5 p. 100, tantôt des cultures sur milieu de Lumière (foie de bœuf glycéliné à 6 p. 100); plus tard, nous avons employé des cultures sur gélose glycélinée à 5 p. 100.

D'ailleurs, la nature du milieu de culture sera indiquée à chaque observation.

INJECTIONS INTRA VEINEUSES.

Les animaux témoins au nombre de 11, inoculés en injection intraveineuse, sont tous morts dans une période comprise

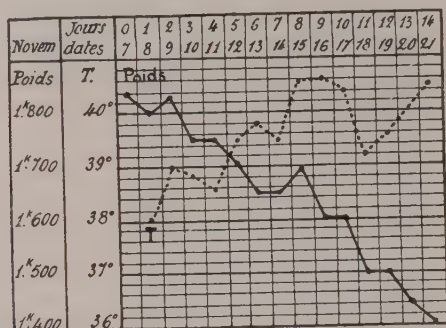


FIG. 7.

entre le 11^e et le 22^e jour. Les injections furent faites avec des cultures de tuberculose aviaire; une ou deux spatules de culture fraîche âgée de 1 à 2 mois et diluée dans 2 à 10 centimètres cubes d'eau physiologique.

Les symptômes constatés étaient généralement de l'amaigrissement, de l'anorexie, de l'abattement et une élévation de température, surtout les derniers jours (voir figure 7). A l'autopsie, les organes sont normaux comme forme, couleur et poids. On note seulement une hypertrophie légère du foie et de la rate. Le critérium de la cause de la mort se trouve dans les frottis de rate et de foie toujours criblés de bacilles très nets, quelle que soit la coloration employée. C'est le type classique décrit par Yersin. Ajoutons, toutefois, que nous n'avons jamais

rencontré l'hypertrophie « considérable de la rate et du foie » signalée dans ce cas.

Voici, d'ailleurs, le poids moyen des organes des témoins morts suivant le type Yersin, 11 à 22 jours après l'inoculation.

Foie	65 gr. »	Bacilles très nombreux.
Rate.	1 gr. 5	Bacilles nombreux.
Reins	8 gr. (chaque).	Pas de bacilles.
Poumons	11 gr. (les deux).	Pas de bacilles.

Jamais nous n'avons constaté la forme granulique à l'autopsie des animaux.

INOCULATIONS INTRAVÉSICULAIRES.

Lapin n° 18, reçoit, le 13 mai, une inoculation de bacille tuberculeux aviaire dans la vésicule biliaire. La vésicule a été

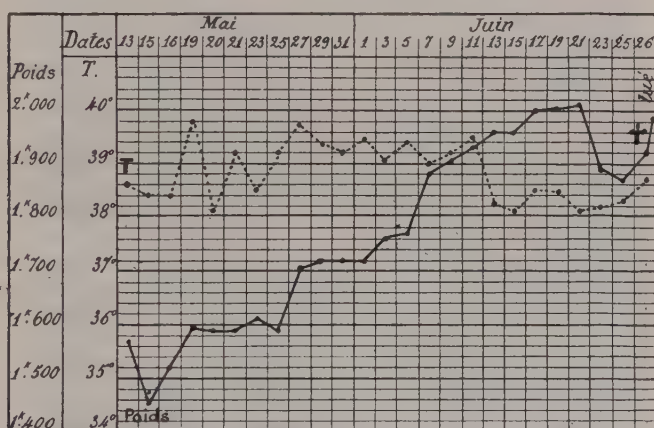


FIG. 8.

préalablement vidée de son contenu. La quantité de bacilles inoculés est de deux œses environ, diluées dans 1 centimètre cube d'eau physiologique. Les bacilles proviennent d'une culture sur pomme de terre glycinée à 37 degrés, âgée de 1 mois.

Poids de l'animal avant l'opération : 1.570.

Le 26 juin, c'est-à-dire 42 jours après, alors qu'il était en parfait état, l'animal est sacrifié (voir figure 8).

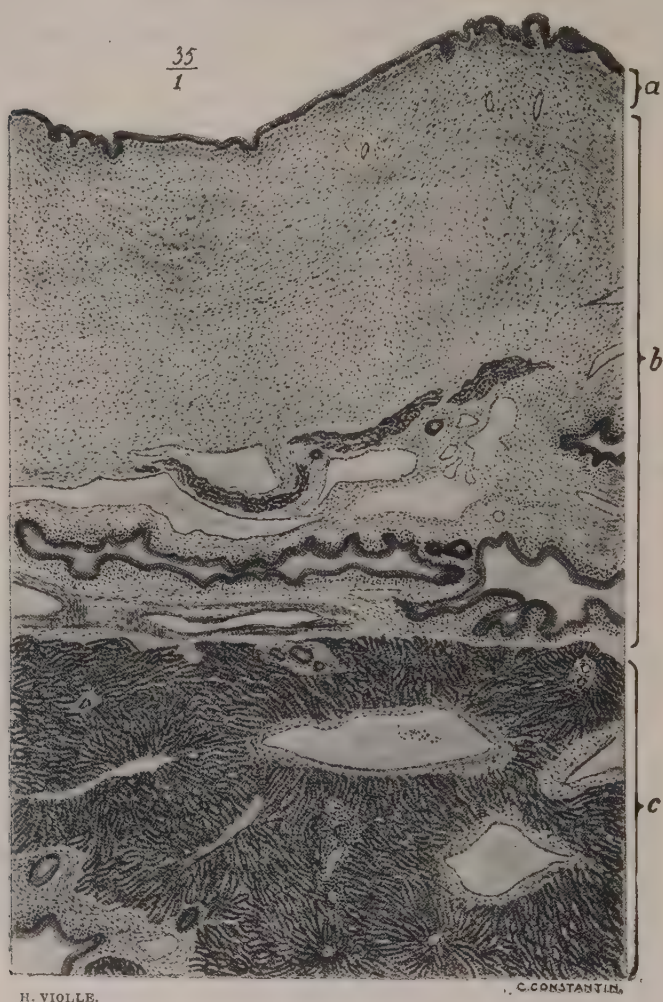


FIG. 9. — *Vésicule biliaire. — Tuberculose aviaire.*

a, muqueuse. — *b*, couche conjonctivo-fibreuse (très fortement épaissie et vascularisée). — *c*, tissu hépatique.

Son poids avait atteint 2 kilogrammes. Aucune modification extérieure; l'aspect de tous les organes: poumons, cœur, foie, rate, reins, intestins et séreuses, est normal.

Voici d'ailleurs les poids moyens trouvés dans les autopsies faites chez différents animaux, dans les mêmes conditions :

Foie	50 à 70 grammes.
Rate	0 gr. 75 à 2 grammes.
Reins	6 à 8 gr. (un seul.)
Poumons	10 à 15 gr. (les deux.)

La vésicule biliaire seule est modifiée (voir figure 9) et présente les lésions décrites dans la première partie de cet ouvrage.

L'inoculation du liquide vésiculaire, sous le pli de l'aîne d'un cobaye, ne donne, après 2 mois, aucun résultat, l'animal n'ayant pas présenté de réaction locale ni ganglionnaire. A l'autopsie, aucune lésion organique, ni macroscopique ni microscopique.

Des frottis des différents organes du lapin inoculé : foie, rate, reins, poumons, moelle osseuse, ne montrent pas de bacilles tuberculeux.

Des inoculations de fragments de ces différents organes chez les cobayes restent négatives.

Des coupes histologiques de ces mêmes organes ne révèlent pas la présence du bacille tuberculeux.

En résumé, le lapin inoculé dans la vésicule biliaire, un mois et demi auparavant, avec des bacilles tuberculeux à dose mortelle, a résisté. La réaction a eu lieu seulement localement. Au niveau de la région inoculée, elle s'est manifestée par un apport assez considérable de leucocytes. L'infection ne s'est généralisée à aucun moment; l'organisme ne présente aucune trace de lésions anciennes ou récentes et une absence totale de ganglions suspects.

Tous les cas d'animaux inoculés peuvent être considérés comme calqués sur le précédent.

Les lapins témoins de même poids, inoculés en injection intraveineuse, avec une quantité équivalente de bacilles tuberculeux, sont tous morts rapidement (voir chapitre précédent).

INOCULATION INTRAVÉSICULAIRE SUIVIE D'INJECTION INTRAVEINEUSE.

Inoculation le 13 mai au lapin 36 dans la vésicule biliaire, préalablement vidée, de 2 oses environ de bacilles tuberculeux

(n° 84) en injection intraveineuse : 1 mois après l'inoculation, l'animal n'avait encore présenté aucune réaction ; son poids avait sensiblement augmenté (voir fig. 11). Le 22 novembre il reçoit avec un témoin une injection intraveineuse tuberculeuse. Le 10 décembre le témoin meurt avec lésions tuberculeuses ; l'autre animal, tué, ne présente aucune lésion spécifique.

Le lapin précédent, n° 36, présente à l'autopsie 3 ganglions ; l'un adossé à la colonne vertébrale, derrière le foie ; l'autre, trachéo-bronchique, le troisième dans le bassin, adossé à une des veines iliaques ; tous trois étaient de la grosseur d'un grain de blé, blancs, durs à la coupe, se composant d'une coque

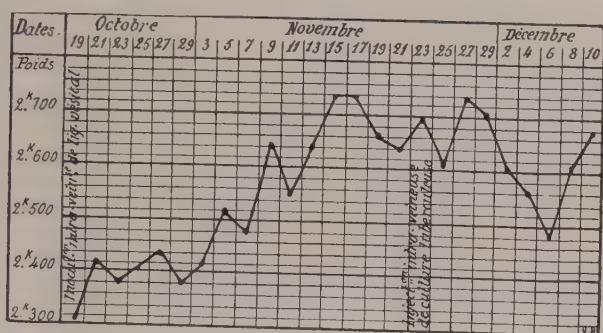


FIG. 11.

fibreuse et d'un contenu caséux. Sur frottis, on ne constate pas la présence de bacilles, mais de quelques cellules géantes.

Inoculés après broyage et dilution en eau physiologique dans le pli de l'aîne d'un cobaye, les ganglions ne donnent lieu à aucun retentissement ganglionnaire après plus de 2 mois. En coupe histologique, ces ganglions montrent des lésions de congestion et quelques lésions paraissant spécifiques mais sans bacilles tuberculeux.

Le cas décrit plus haut est le cas courant, rencontré lors d'une autopsie variant entre 1 et 3 mois, après l'inoculation intraveineuse, consécutive elle-même à l'inoculation intravésiculaire. Il est évident que si l'autopsie a lieu dans un espace de temps beaucoup plus proche de l'inoculation intra-veineuse, les faits ne seront pas absolument identiques. Le bacille qui vient d'être injecté en très grande quantité dans la circulation géné-

rale persistera dans l'organisme un certain temps. Ce temps est relativement très court, et c'est là le fait essentiel. Le bacille en premier lieu ne se développe pas, il ne peut se développer dans un sérum ou dans des organes baignés par un sérum qui jouit de propriétés bactéricides ou favorisant la bactériolyse. L'expérience suivante paraît en tourner la preuve.

Lapin n° 42, inoculé le 26 juin, intravésicairement, avec une dose de culture aviaire sur gélose glycinée à 37 degrés de 50 jours.

Le 22 août, c'est-à-dire 56 jours après l'inoculation, l'animal en pleine santé reçoit une injection intraveineuse tuberculeuse (1/2 culture sur gélose glycinée à 37 degrés de 2 mois 1/2). Le surlendemain, l'animal est sacrifié. A l'autopsie : organes normaux, pas de lésions congestives, pas de liquide dans les séreuses, pas de ganglions. La vésicule présente les lésions habituelles, macroscopiques et microscopiques ; absence de bacilles dans tous les organes, sauf la rate, qui en contient une très faible quantité, et les reins où il y en a moins encore.

D'après ces faits, les bacilles paraîtraient soit éliminés au dehors (par les reins ou l'intestin), soit détruits *in vivo* (rate et organes lymphoïdes).

La présence de très rares bacilles au niveau de l'épithélium rénal semblerait permettre de croire à leur élimination par cette voie. Cependant, les inoculations, chez les cobayes, du culot de centrifugation de 5 centimètres cubes d'urine recueillie aseptiquement 24 heures après l'injection bacillaire intraveineuse, sont demeurées négatives après plus de 3 mois.

Quant à la voie intestinale, la méthode employée par Calmette avec succès chez le bœuf nous a donné sur 6 cobayes, après plus de 3 mois, 6 cas négatifs (inoculation de 1 gramme de matières fécales recueillies 24 heures après l'injection bacillaire intraveineuse).

Afin d'essayer de déterminer la durée de persistance des bacilles injectés dans les veines après l'inoculation vaccinnante intravésiculaire, nous avons fait la recherche de bacilles tuberculeux dans le sang par le double procédé employé chez l'homme par Nattan-Larrier et Loeper-Louste. On agissait sur 10 centimètres cubes de sang pris par ponction intracardiaque et

hémolysés immédiatement, soit par l'eau distillée dans la proportion de 10 centimètres cubes de sang pour 120 centimètres cubes d'eau (Nattan-Larrier), soit par l'alcool au tiers dans la proportion de 10 centimètres cubes de sang pour 20 centimètres cubes d'alcool (Loeper-Louste); puis on laissait reposer et on centrifugeait. Le culot de centrifugation, étalé sur lames et coloré, ne nous a jamais permis de découvrir le bacille dans le sang, pris 24, 48 et 52 heures après l'inoculation intraveineuse. D'autres culots délayés dans un peu d'eau physiologique, puis inoculés aux cobayes (expériences sur 8 animaux), n'ont donné également aucun résultat positif.

La tuberculose chez le lapin n° 42, vacciné intravésiculairement, puis inoculé dans les veines, s'est signalée à l'autopsie par un nombre très élevé de bacilles dans la vésicule, et par l'apparition de ganglions dans l'organisme.

La présence de bacilles dans la vésicule est normale, puisque l'animal avait été inoculé en ce point. Mais ces bacilles injectés 5 mois auparavant, partiellement dégénérés, ne déterminent chez le cobaye et le lapin aucune lésion, et cela établit que les bacilles sont morts ou que, vivants, ils sont avirulents.

La présence de lésions ganglionnaires dans l'organisme en des points différents prouve qu'il y a eu lutte contre l'envahissement par le bacille tuberculeux; mais à quel moment?

Après l'inoculation intravésiculaire? Assurément non, puisque tous les animaux inoculés exclusivement dans la vésicule biliaire n'ont jamais présenté d'adénite consécutive.

Après l'injection intraveineuse? Mais toute injection intraveineuse de bacilles virulents cause la mort de l'animal en l'espace de 15 à 20 jours, suivant le type Yersin, c'est-à-dire sans provoquer aucune réaction ganglionnaire.

Quoi qu'il en soit, la présence de ganglions indiquant une réaction de défense, on doit en conclure que l'animal était immunisé; et, comme les ganglions sont peu nombreux et de petite dimension, et ne présentent ni périadénite, ni suppuration, l'immunité était très active. En fait, 2 mois après l'inoculation intraveineuse des bacilles tuberculeux, aucun vestige bacillaire ne persiste dans l'organisme. Et cependant ces bacilles étaient doués d'une grande virulence puisque les témoins

mouraient en l'espace de 2 semaines, alors même qu'ils étaient inoculés avec des quantités très faibles.

Ainsi, un lapin vacciné par inoculation préalable de bacilles virulents dans la vésicule biliaire est capable de résister à l'inoculation intraveineuse d'une culture tuberculeuse virulente, inoculation toujours rapidement mortelle chez les témoins.

Un lapin rendu tuberculeux par inoculation sous-cutanée et mieux intrapéritonéale ou intraveineuse réagit quelquefois fortement, généralement avec intensité, mais presque toujours nettement à une seconde injection tuberculeuse (phénomène de Koch) en présentant des phénomènes locaux ou généraux, où les deux associés (1).

L'absence totale de réaction, même légère, même fugace, chez un lapin inoculé préalablement dans la vésicule et secondairement dans les veines avec une culture tuberculeuse, tendrait donc à prouver que l'animal est « vacciné » dans le sens où l'on emploie couramment ce terme, c'est-à-dire incapable de succomber à une nouvelle atteinte du bacille; qu'il est physiologiquement ou humoralement vacciné, c'est-à-dire que dans son organisme ne circulerait plus de tuberculine capable par l'addition d'une nouvelle dose de tuberculine (culture de bacilles ou toxines) de produire des phénomènes de superintoxication ou d'anaphylaxie.

On pourrait cependant admettre au contraire que l'animal ainsi vacciné aurait produit d'une façon lente et continue, sous l'influence de la dose initiale de bacilles tuberculeux inoculés intravésiculairement, de l'antituberculine, dont la présence ne se manifesterait par aucune action générale consécutive.

PROPRIÉTÉS DU SÉRUM.

Les lapins inoculés dans la vésicule biliaire avec une culture tuberculeuse aviaire, suivant la méthode indiquée précé-

(1) L'épreuve de la tuberculine-réaction, faite chez des lapins ayant reçu des bacilles tuberculeux, les uns en inoculations intravésiculaires, les autres en inoculations intraveineuses, d'autres en les deux voies, n'a pas fourni de résultats caractéristiques. On sait que les lapins réagissent mal, ou plus exactement, très inégalement, à la tuberculine (Arloing, Rodet et Courmont).

demment, fournissent un sérum dont on a essayé de déterminer le pouvoir immunisant, soit chez les cobayes, soit chez les lapins.

Voici quelques exemples tirés des expériences faites :

Premier cas : 28 juin, injection sous-cutanée de 2 centimètres cubes de sérum (d'un lapin inoculé intravésiculairement 2 mois auparavant avec une culture tuberculeuse) aux 2 cobayes 28 et 29.

29 juin, 2^e injection identique à la précédente.

Ce même jour, les 2 cobayes 28 et 29 et 2 autres cobayes 30 et 31 (témoins) reçoivent, sous la peau, au niveau de la face interne de la cuisse, 1 ose de bacilles tuberculeux aviaires (cultivés sur milieu de Lumière de 20 jours, à 37 degrés).

Le 30 juin, 3^e injection de 2 centimètres cubes de sérum aux 2 cobayes 28 et 29.

Le 1^{er} juillet, 4^e injection de 3 cent. cubes de sérum aux mêmes animaux.

Le 3 juillet, 5^e injection de 3 cent. cubes de sérum aux mêmes animaux.

Le 8 juillet on constate l'apparition chez tous les cobayes de petits ganglions roulant sous le doigt, ayant la grosseur d'un pois et indolores.

Dans le courant du mois de juillet, chez les cobayes témoins 30 et 31 ces ganglions augmentent progressivement du côté du point d'inoculation, d'autres apparaissent de l'autre côté. Les ganglions restent petits, unilatéraux et insignifiants chez le cobaye 28. Le cobaye 29 a succombé peu après l'inoculation, probablement de septicémie ou d'anaphylaxie.

Le cobaye 31 meurt le 31 juillet, et son autopsie décèle des lésions typiques de tuberculose : la rate principalement contient des bacilles.

Le cobaye 30 meurt le 1^{er} août, avec également quelques lésions tuberculeuses.

Quant au cobaye 29, il était encore vivant 6 mois après l'inoculation, ne présentant aucune lésion apparente ; son poids avait passé de 130 à 260 grammes.

Deuxième cas : Cobaye 75 reçoit en injection sous-cutanée 4 centimètres cubes d'un mélange de culture tuberculeuse et de sérum, resté 1 heure à l'étuve à 37 degrés et présentant après ce

temps une forte agglutination. Le sérum provient d'un lapin inoculé 1 mois 1/2 auparavant dans la vésicule biliaire avec une émulsion de bacilles tuberculeux virulents.

Cobaye 76 reçoit préventivement en injection sous-cutanée 6 centimètres cubes de sérum, puis 24 heures après, une inoculation de bacilles tuberculeux.

Cobaye 77 reçoit, en injection sous-cutanée, une culture tuberculeuse seule (animal témoin).

Chez les 3 cobayes, les cultures tuberculeuses inoculées étaient équivalentes en quantité : 1 öse de bacilles tuberculeux de quinze jours sur gélose glycinée à 37 degrés.

Le témoin 77 meurt 34 jours après l'inoculation, avec des lésions tuberculeuses (rate, foie contenant des bacilles tuberculeux), après avoir présenté un amaigrissement notable.

Le cobaye 75 est tué à même date. Poids légèrement diminué. A l'autopsie, ganglions de la grosseur d'une noisette au niveau du point d'inoculation avec contenu caséux et bacilles mais sans suppuration. Le foie, la rate et le pancréas contiennent quelques bacilles tuberculeux.

Le cobaye 76, tué également le même jour, a augmenté de poids. Il présente un ganglion à contenu caséux avec zone périphérique sclérosée, au point d'inoculation. Très peu de bacilles dans ce pus. Les organes sont normaux : le foie et la rate ne contiennent aucun bacille ; absence de bacilles également dans les autres organes.

Troisième cas : Cobaye 23. Reçoit en injection sous-cutanée 2 centimètres cubes de sérum provenant d'un lapin inoculé dans la vésicule biliaire 1 mois auparavant avec culture tuberculeuse virulente, puis 2 heures après cette première injection un mélange de 4 centimètres cubes du même sérum et 2 spatules (environ 6 öses) de bacilles tuberculeux (culture de 23 jours sur pomme de terre glycinée à 37 degrés).

Cobaye 24, témoin, reçoit une culture tuberculeuse seule, en quantité équivalente à celle qui a été inoculée au cobaye précédent.

31 jours après l'inoculation, le témoin meurt, amaigri, avec lésions tuberculeuses généralisées (rate et foie contenant des bacilles tuberculeux).

Le cobaye 23, alors bien portant, et ayant augmenté de

poids, est tué le même jour. Ganglions de la grosseur d'une noisette au niveau du point d'inoculation, avec zone fibreuse périphérique. Le contenu caséeux renferme des bacilles en assez grande proportion. Aucune généralisation : tous les organes sont sains; le foie et la rate ne renferment aucun bacille.

De tous ces faits il résulte que les injections sous-cutanées de cultures vivantes et virulentes de tuberculose aviaire, à dose très élevée, ont tué, en provoquant des lésions de tuberculose généralisée, les témoins en 30 à 35 jours. Par contre, les animaux qui ont reçu préventivement, en injection sous-cutanée, du sérum d'animaux vaccinés intravésiculairement, à la dose de 10 centimètres cubes, résistent, ne présentant qu'une lésion locale, au niveau du point d'inoculation, et aucune généralisation du bacille après plus d'un mois. Les doses moins élevées, injectées préventivement ou mélangées à la culture tuberculeuse, semblent insuffisantes.

Le mélange de culture tuberculeuse et de sérum en quantité suffisante, provenant d'un animal vacciné, paraît avoir perdu sa virulence. Les résultats furent toujours identiques, quoique les expériences tendant à établir ce fait fussent par 5 fois répétées. Elles peuvent être, dans leur ensemble, résumées ainsi :

Lapin A, reçoit un mélange de 5 centimètres cubes de sérum d'un lapin inoculé intravésiculairement 1 à 3 mois auparavant, et d'une culture tuberculeuse (1/8 tube de culture de tuberculose aviaire sur gélose glycinée de 1 à 2 mois à 37 degrés, diluée dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique). Le mélange bien agité a été laissé en contact 2 heures à 37 degrés. On inocule les 10 centimètres cubes dans la veine marginale de l'oreille d'un lapin neuf.

Lapin B, sert d'animal témoin; il reçoit, en injection intraveineuse également, la même quantité de bacilles tuberculeux, dilués dans la même quantité d'eau physiologique.

Après une période de 12 à 15 jours, l'animal témoin B meurt de tuberculose à type Yersin.

L'animal A, ayant reçu le mélange, résiste et ne présente à aucun moment une réaction quelconque, pouvant se traduire par une diminution de poids ou une élévation de température.

Sacrifié 2 mois après l'inoculation intraveineuse, l'animal, en parfait état, ne montre aucune lésion tuberculeuse.

Il s'ensuit donc qu'une culture tuberculeuse, additionnée de sérum selon le mode indiqué, paraît totalement avirulente alors que la même culture, injectée seule, cause la mort de l'animal témoin très rapidement.

Le mélange préparé comme nous l'avons dit ci-dessus, et laissé 2 heures à l'étuve à 37 degrés, n'est plus, à l'inverse du tube témoin qui ne renferme qu'une émulsion de bacille tuberculeux, une solution trouble et laiteuse. Le liquide s'est séparé en 2 couches absolument nettes et distinctes : l'une inférieure, pâteuse, floconneuse, blanche, dense, composée exclusivement de bacilles ; l'autre supérieure, claire, ambrée, qui n'est autre que le sérum surnageant. Il y a donc eu agglutination totale ou précipitation en 2 heures de tous les éléments bacillaires sous l'influence du sérum. Cela peut permettre, *a priori*, d'interpréter les différences essentielles de réactions que l'on constatera chez les animaux injectés ou témoins.

CHAPITRE V

SPOROTRICHUM

L'inoculation intravésiculaire chez le lapin de sporotrichum (1) provoque la formation d'anticorps spécifiques.

Exemple : Lapin n° 20, reçoit, en inoculation le 10 mai, dans la vésicule biliaire, 1 centimètre cube de bouillon contenant en suspension 1/10 de culture totale sur milieu de Sabouraud, à 37 degrés, de sporotrichum, âgée de 8 jours et très riche en spores et filaments.

23 jours après l'opération, le sérum essayé donne un taux agglutinatif s'élevant à 1 p. 150.

Avant l'opération, l'agglutination était positive à 1 p. 20.

Il semblerait que les cultures jeunes puissent produire la formation d'agglutinines en plus grande quantité que les cultures anciennes; en d'autres termes, que la substance agglutinante les spores *in vitro* se formerait surtout aux dépens, non des spores, mais des filaments, c'est-à-dire d'éléments plus facilement sensibilisés et lysés.

Ceci paraît également résulter d'expériences où le taux agglutinatif s'est élevé à 1 p. 300 et à 1 p. 500 chez des animaux inoculés intravésiculairement avec des cultures âgées seulement de 4 et 5 jours.

Le sérum n'a pas été employé en injections préventives contre l'orchite expérimentale du rat (méthode de Gougerot).

(1) Cultures provenant de l'Institut Pasteur et portant la mention « *Sporotrichum*, Salmon ».

CHAPITRE VI

ALBUMINE

L'inoculation intravésiculaire d'albumine provoque chez le lapin la formation d'anticorps correspondants. Le procédé le plus facile à employer pour mettre ces anticorps en évidence est naturellement de susciter des phénomènes anaphylactiques chez l'animal opéré. En d'autres termes, si, à la suite de l'injection préparante, il y a eu, suivant Richet, production de toxogénine, il suffira d'inoculer à nouveau de la toxine pour provoquer, par cette injection déchaînante, la formation immédiate d'apotoxine, dont la présence dans l'organisme se manifestera par des réactions extrêmement violentes. Et de fait, ces réactions apparurent avec intensité dans tous les cas observés.

Exemple : Lapin n° 24, est inoculé le 19 juin intravésiculairement avec 1/2 centimètre cube d'albumine d'œuf, fraîche et non délayée.

Le 28 août, c'est-à-dire plus de 2 mois après l'opération, on injecte dans le cœur de l'animal 1 centimètre cube d'albumine fraîche et non délayée. A peine l'aiguille est-elle retirée que l'animal, les pupilles très dilatées, agité de quelques convulsions, pousse des gémissements plaintifs, émet des urines et des matières fécales et s'affaisse mort en l'espace de quelques secondes.

A l'autopsie, aucune lésion; tous les organes sont normaux. La vésicule biliaire est très développée.

Un témoin ayant reçu uniquement l'injection albumineuse intracardiaque n'éprouve aucun malaise.

L'expérience précédente a été répétée sur 3 lapins, inoculés intravésiculairement et dans des conditions identiques; les résultats obtenus ont été analogues : mort foudroyante lors de l'injection déchainante, intracardiaque, alors que les 3 témoins ne présentaient à la seule injection intracardiaque aucune réaction, si faible fût-elle.

PROPRIÉTÉS DU SÉRUM DES ANIMAUX ANAPHYLACTISÉS PAR VOIE
INTRAVÉSICULAIRE.

Le sérum des animaux inoculés intravésiculairement jouit de la propriété, par son abondance en anticorps, de provoquer des phénomènes d'anaphylaxie chez les animaux qui ont été préparés primitivement par lui et qui reçoivent postérieurement une inoculation intracardiaque albumineuse (phénomène d'anaphylaxie passive hétérogène de Richet).

En voici quelques exemples.

COBAYES de 400 grammes environ.	INJECTIONS sous-cutanées de sérum (1) 48 heures auparavant.	INJECTION INTRACARDIAQUE de 2 centimètres cubes de solution albumineuse à 50 p. 100.	
32	1 cc.	Phén. réact. intense.	Ne meurt pas.
36	1 cc.	— — —	Meurt en 1/4 d'heure.
33	1/4 cc.	— — —	Mort immédiate.
37	1/4 cc.	— — —	Mort presque immédiate.
34	1/10 cc.	— — —	Mort après une 1/2 heure.
38	1/10 cc.	Forte réaction.	Ne meurt pas.
35	1/100 cc.	Très légère réaction.	— —
39	1/100 cc.	Pas de réaction.	— —
40	Témoin.	Aucune réaction.	— —
41	Témoin.	Aucune réaction.	— —

(1) Sérum de lapins opérés intravésiculairement 2 mois auparavant.

Dans une seconde série d'expériences, nous avons utilisé en injection préparante, en place et lieu de sérum, le liquide vésiculaire des lapins inoculés intravésiculairement, un mois et demi auparavant.

Voici les résultats obtenus :

COBAYES	INJECTIONS sous-cutanées de liquide vésiculaire.	INJECTION INTRACARDIAQUE de 1 centimètre cube d'albumine.
81	1 cc.	Meurt en quelques minutes.
82	1/5 cc.	Phénom. d'anaphylaxie prononcée. Ne meurt pas.
83	1/10 cc.	Aucune réaction.
84	1/100 cc.	Aucune réaction.
Témoin 85	0 cc.	Aucune réaction.

Dans une troisième série d'expériences, le mélange de sérum et d'albumine, extemporanément préparé, fut directement injecté dans le cœur.

Les résultats, consignés dans le tableau suivant, furent nettement positifs.

COBAYES	NATURE des injections.	RÉSULTATS
88	1/2 cc. sér. et 1 cc. alb.	Meurt 6 heures apr. avec anaphylaxie.
89	1/4 cc. sér. et 1 cc. alb.	Meurt 4 heures après.
Témoin 90	Albumine seule : 1 cc.	Aucune réaction.
— 91	Sérum seul : 1/2 cc.	Aucune réaction.

Enfin, dans une quatrième série d'expériences, l'injection préparante fut suivie, 72 heures après, de l'injection déchaî-
nante. L'expérience ne montra plus d'action sensible, ainsi
que le prouve le tableau ci-joint :

COBAYES	NATURE des injections.	RÉSULTATS
92	1/4 cc. sérum et 1 cc. albumine.	Somnolence, abattement, légère hy- pothémie durant les 2 premières heu- res puis rétablissement intégral.
Témoin 93	1 cc. albumine seule.	Aucune réaction.
— 94	1/4 cc. sérum seul.	Aucune réaction.

En résumé, les injections intravésiculaires d'albumine, suivies, après un temps déterminé, d'injections intracardiaques de même nature et en quantité déterminée, provoquent des phénomènes d'anaphylaxie.

Des phénomènes d'anaphylaxie passive hétérogène sont également produits par l'inoculation sous-cutanée de sérum provenant d'animaux anaphylactisés activement, suivie 24 ou 48 heures après d'une injection intracardiaque albumineuse.

Lorsque, dans ce cas, les deux injections, préparante et déchainante, sont séparées par un intervalle de temps trop considérable, il y a absence ou atténuation des phénomènes anaphylactiques.

Le liquide extrait de la vésicule biliaire d'animaux ayant reçu une injection d'albumine dans cette cavité quelque temps auparavant (2 mois), et injecté à des sujets neufs, paraît pouvoir déterminer également des phénomènes d'anaphylaxie lors d'injections secondes intracardiaques albumineuses.

CHAPITRE VII

HÉMATIES

(Sérum hémolytique).

L'inoculation intravésiculaire, au lapin, de globules rouges d'une autre espèce animale (mouton), détermine chez le sujet opéré la formation d'anticorps spécifiques.

Exemple : Lapin n° 10, est inoculé le 10 juin dans la vésicule biliaire, préalablement vidée de son contenu, avec 1 centimètre cube de globules rouges de mouton, non dilués, mais lavés trois fois auparavant à l'eau physiologique.

Le 17 juin, 7 jours après l'inoculation, on fait, suivant la méthode habituelle et conformément au tableau ci-dessous, un titrage du pouvoir hémolytique du sérum de l'animal opéré.

GLOBULES rouges mouton dilués à 1 p. 20 (1).	ALEXINE fraîche de cobaye à 50 p. 100.	SÉRUM (2) hémolytique chauffé 1/2 heure à 55 degrés.	RÉSULTATS A 37 DEGRÉS	
			Après 1/4 d'heure.	Après 1/2 heure.
1 cc.	0 cc. 1	0 cc. 2	Hémolyse totale.	Hémolyse totale.
1 cc.	0 cc. 1	0 cc. 1	Hémolyse totale.	Hémolyse totale.
1 cc.	0 cc. 1	0 cc. 05	Hémolyse totale.	Hémolyse totale.
1 cc.	0 cc. 1	0 cc. 01	Hémolyse partielle.	Hémolyse totale.
1 cc.	0 cc. 1	0 cc. 005	Pas d'hémolyse.	Hémol. partielle.
1 cc.	»	0 cc. 2	Pas d'hémolyse.	Pas d'hémolyse.
1 cc.	0 cc. 1	»	Pas d'hémolyse.	Pas d'hémolyse.

(1) Globules frais ou stabilisés.
(2) Sérum hémolytique anti-mouton.

On trouve un sérum hémolysant à 1 p. 10 ; 15 jours, puis

1 mois après, le pouvoir hémolytique reste le même. A cette époque, l'animal est tué. A l'autopsie, tous les organes sont normaux. La vésicule biliaire présente les lésions habituelles (voir 1^{re} partie).

On ne constate plus la présence d'hématies de mouton, même morcelées, libres ou incluses. L'examen spectroscopique et les réactions chimiques du sang restent également négatifs, n'indiquant que la présence de sels biliaires.

D'autres animaux, opérés dans les mêmes conditions, mais avec des doses différentes, donnent des résultats différents.

1^{er} *Exemple* : Lapin n° 41, opéré le 23 juin. Quantité de globules rouges inoculés : 1/4 de centimètre cube.

Le 2 juillet, puis le 9 juillet, c'est-à-dire 8 et 15 jours après l'opération, le pouvoir hémolytique s'élève à 0,05, étant de 0,2 avant l'opération. A l'autopsie, les lésions rencontrées dans la vésicule sont identiques à celles des cas précédents.

2^e *Exemple* : Lapin n° 26, opéré le 30 juin. Quantité de globules rouges inoculée : 1 centimètre cube.

Le pouvoir hémolytique, négatif même à 0,2 avant l'opération, s'élèvera à 0,04, 10 jours après l'inoculation.

A l'autopsie, mêmes lésions que précédemment.

Nous avons, dans une autre série d'expériences, recherché si l'action chimiotactique habituelle négative de l'acide lactique vis-à-vis des globules blancs se manifesterait par l'absence de pouvoir hémolytique du sérum de l'animal auquel on aurait injecté des hématies imprégnées de cet acide.

Voici le résultat d'une de ces expériences.

Lapin n° 33. Le 28 juillet, inoculé dans la vésicule avec 1 centimètre cube d'un mélange à parties égales d'acide lactique (en solution à 1 p. 100) et de globules rouges de mouton, frais et lavés préalablement 3 fois à l'eau physiologique. Le mélange prend aussitôt une teinte noirâtre, et le sang devient laqué.

Avant l'opération, le sérum hémolysait à la dose de 0,2; 8, puis 15, puis 20 jours après l'opération, le pouvoir n'a pas augmenté : il reste à 0,2.

L'animal est sacrifié le 28 août, 1 mois après l'opération. A l'autopsie, tous les organes sont normaux. La vésicule biliaire n'a pas augmenté de volume; elle serait plutôt de capacité moindre; légèrement aplatie et recroquevillée, elle présente des parois normales. A l'intérieur, on trouve une masse grisâtre, qui microscopiquement se montre anhyste et qui, chimiquement (réactions de Weber, de Meyer, par les cristaux d'hémine) et physiquement (examen spectroscopique), indique la présence en quantité assez abondante de sang.

Ainsi, l'acide lactique par sa présence et son contact avec des globules rouges a entravé la diapédèse des globules blancs. Les globules rouges, soumis à l'action de l'acide lactique d'une part, et d'autre part à celle des sels biliaires et de la mucine, qui en très faible quantité restaient dans la vésicule, ont subi une désintégration très avancée et ont été en très faible partie résorbés. La plus grosse part de la masse hématique est restée dans la vésicule.

Les globules blancs, qui n'ont pu entrer en contact avec les hématies, n'ont fourni aucun anticorps, et la valeur hémolytique de l'animal est restée 1 mois après l'opération telle qu'elle était avant.

Dans une autre série d'expériences, le but proposé fut inverse du précédent, c'est-à-dire consista à additionner les hématies de spores charbonneuses, substances chimiotactiques douées d'un grand pouvoir positif.

Voici une de ces expériences.

Lapin n° 25. Opéré le 13 juillet, reçoit dans la vésicule 1/10 de centimètre cube d'hématies de mouton fraîches et lavées, additionnées de la même quantité de spores charbonneuses, tuées par la chaleur.

Avant l'opération le sérum hémolysait à 0,4 ; 5 jours après l'opération, ce sérum hémolysait à 0,05 ; 12 et 41 jours après à 0,001.

A cette époque, l'animal, en parfait état, est sacrifié. On ne constate aucune lésion des organes. La vésicule biliaire est de petite dimension, à parois peu épaissies. A l'intérieur, on

trouve un contenu blanchâtre et crémeux, formé de leucocytes.

Il résulte de cette expérience et d'autres faites dans de semblables conditions qu'une substance chimiotactique positive, en contact avec des globules rouges, favorise la diapédèse leucocytaire et présente une double action :

1° Les leucocytes, dans une première phase, se trouvant en présence d'hématies et de spores charbonneuses, englobent et digèrent ces dernières qui les ont attirés : période très rapide si ces spores sont en faible proportion ;

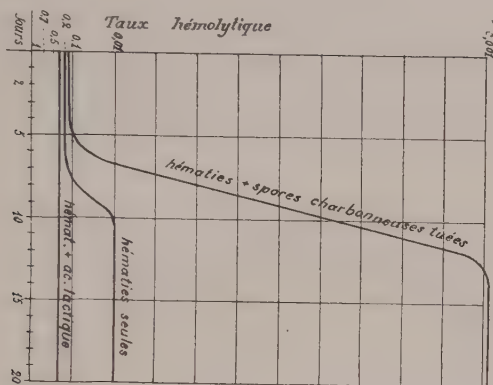


FIG. 12.

2° Les leucocytes, dans une seconde phase, amassés dans la vésicule en nombre considérable et ayant détruit toutes les spores charbonneuses plus « attirantes », portent leur action sur les hématies qui, à leur tour, sont englobées, digérées, et finalement donnent naissance aux anticorps spécifiques hémolytiques, sous forme de récepteurs libres se répandant dans la circulation générale.

Toutefois, nous devons reconnaître que, dans le cas actuel, l'inoculation intravésiculaire ne paraît pas avoir une valeur supérieure à l'inoculation intraveineuse.

L'expérience suivante tend à le prouver :

Elle consiste à inoculer, d'une part dans les veines, d'autre part dans la vésicule, chez deux lapins différents, une même quantité d'un mélange de globules rouges et de spores charbonneuses tuées, et à comparer les résultats obtenus.

Exemple : Lapin n° 78, reçoit le 5 septembre en inoculation intravésiculaire 0,3 centimètre cube d'hématies de mouton, mélangées à la même quantité de spores charbonneuses tuées (dilution légère en eau physiologique).

Le lapin 79, de même poids, reçoit le même jour en injection intraveineuse la même quantité du mélange précédent, spores-hématies.

Avant l'inoculation, le sérum de chacun des deux animaux était équivalent et hémolysait à 0,05.

Neuf jours après l'inoculation, le sérum de chacun des deux animaux était encore équivalent, quoique d'un taux supérieur, et hémolysait à 0,005. Les deux méthodes, dans ce cas, sont de même valeur.

CONCLUSIONS

L'inoculation de divers antigènes dans la vésicule biliaire du lapin, au préalable transformée en sac vide et clos, provoque chez l'animal opéré la formation d'anticorps correspondants spécifiques.

Ce mode d'inoculation est aisé à pratiquer. Il ne fait jamais éprouver à l'animal de violentes réactions.

Bien conduite, l'immunisation se fait rapidement dans la plupart des cas.

Elle ne présente pas de phases négatives; sa durée semble fort longue.

Dans le cas où cette immunisation paraîtrait trop légère, des injections intraveineuses consécutives du même antigène permettent de mettre, sans réaction, l'animal en état d'hyper-immunisation.

Les bactéries employées comme antigènes engendrent des anticorps immunisants (immunisation active) et le sérum des animaux vaccinés est généralement doué de propriétés immunisantes, bactériennes et antitoxiques (immunisation passive).

Les anticorps paraissent essentiellement formés aux dépens des leucocytes qui, attirés par l'antigène, pénètrent dans la vésicule, grâce aux connections vasculaires hépato-vésiculaires.

Le foie agirait comme réservoir de sang et par suite de globules blancs.

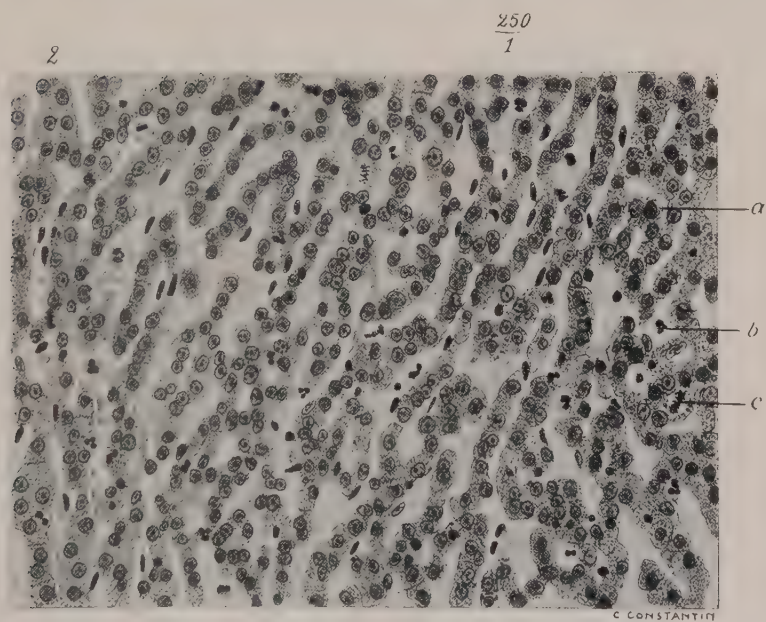
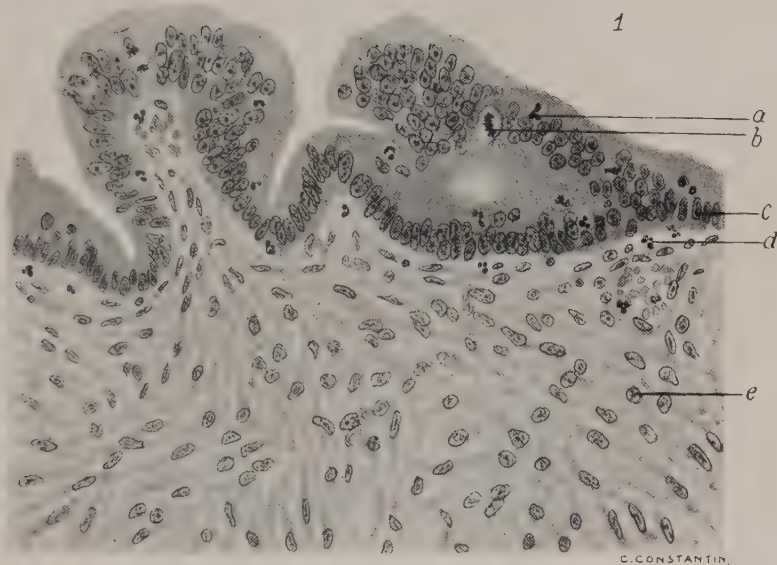


Planche I. — FIG. 1 et 2.

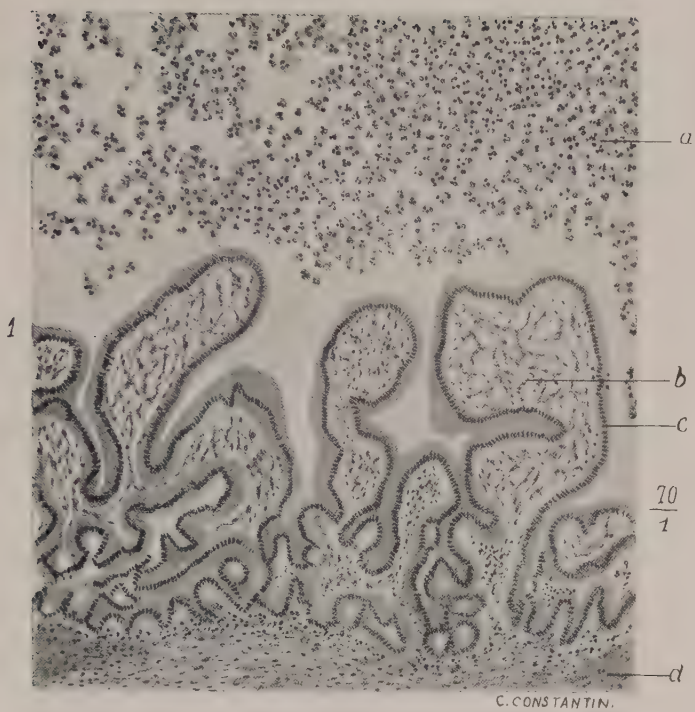


Planche II — FIG. 1 et 2.

EXPLICATION DES PLANCHES

PL. I. *Figure 1.* — Muqueuse de la vésicule biliaire. Choléra,

a, polynucléaire; *b*, figure de mitose; *c*, cellule de la muqueuse;
d, polynucléaire; *e*, tissu conjonctif.

Figure 2. — Tissu hépatique contigu à la vésicule biliaire.

a, cellule hépatique; *b*, polynucléaire; *c*, figure de caryocinèse.

PL. II. *Figure 1.* — Vésicule biliaire et son contenu. Choléra.

a, polynucléaires; *b*, chorion; *c*, endothélium; *d*, tissu conjonctif.

Figure 2. — Vésicule biliaire et son contenu. Tuberculose aviaire.

a, bacille tuberculeux aviaire; *b*, globules blancs dégénérés; *c*, polynucléaire; *d*, cellules endothéliales; *e*, mononucléaires; *f*, tissu conjonctif.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages.
INTRODUCTION	I

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER. Généralités sur les divers modes d'inoculation	1
— II. Vésicule biliaire. Technique de l'inoculation	6
— III. Procédés d'obtention des anticorps par inoculation dans la vésicule biliaire	15
— IV. Inconvénients de l'inoculation dans la vésicule biliaire	22
— V. Pourquoi la bile doit être évacuée de la vésicule. Action anti-leucocytaire. Action différente sur diverses bactéries. . . .	26
— VI. Effets favorables ou défavorables de l'introduction dans la vésicule biliaire de substances chimiotactiques positives ou négatives pour les leucocytes	30
— VII. La vésicule biliaire prise comme lieu d'inoculation n'agit que comme réservoir de leucocytes et de virus	33

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER. Sommaire	37
— II. Vibrion cholérique	38
— III. Bacille typhique	55
— IV. Coli-bacille	58
— V. Bacille tuberculeux.	59
— VI. Sporotrichum.	73
— VII. Albumine	74
— VIII. Hématies	78
CONCLUSIONS	83

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1° IDÉES RÉCENTES

SUR LA FERMENTATION ALCOOLIQUE

2° LES CHAMPIGNONS AGENTS DES SPOROTRICHOSES

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 13 janvier 1912.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

PAUL APPELL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Vice-Recteur de l'Académie,

L. LIARD.

